

Aus der Chirurgischen Klinik und Poliklinik - Großhadern
der Ludwig-Maximilians-Universität München
(Direktor: Professor Dr. med. Dr. h.c. K.-W. Jauch)

Parenterale Aminosäurenzufuhr und postoperative Ileum-Proteinsynthese

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von
David Kuppinger
aus
Böblingen

2010

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. W.H. Hartl

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. J. Schopohl
Priv. Doz. Dr. med. J. Seiderer-Nack

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. med. P. Rittler

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h. c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 14.10.2010

**Meinen Eltern
und meinem Bruder
gewidmet**

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	3
2. Fragestellung	7
3. Patientengut und Methodik	8
3.1 Patientengut	8
3.2 Studienprotokoll	9
3.3 Analytische Methoden	12
3.4 Berechnungen	16
3.5 Statistik	19
4. Ergebnisse	20
4.1 Aminosäure-Konzentration im Plasma	20
4.2 Anreicherung im Präkursorpool für die Mukosa-Proteinsynthese	22
4.3 Anreicherung im Protein der Ileum-Mukosa	25
4.4 Fraktionelle Proteinsyntheserate der Ileum-Mukosa	29
5. Diskussion	31
5.1 Veränderungen der Ileum-Proteinsyntheserate während der Nüchternphase	31
5.2. Hyperaminoazidämie und Ileum-Proteinsyntheserate	37
5.3. Die Bedeutung des anabolen intestinalen Aminosäure- Effektes für die parenterale Ernährung	42
6. Zusammenfassung	45
7. Anhang	48
7.1 Tabellen	48
7.2 Verzeichnis der Abbildungen	57
7.3 Verzeichnis der Abkürzungen	59

8. Literaturverzeichnis	60
9. Danksagung.....	69
10. Lebenslauf	70

1. Einleitung

Die künstliche Ernährung ist heute zentraler Bestandteil der perioperativen Therapie bzw. der Behandlung von Intensivpatienten. Als wichtigste Komponente wird dabei die Zufuhr ausreichender Eiweiß-Mengen angesehen. Nur dadurch kann das Ausmaß der postoperativen Katabolie, bzw. des regelhaft auftretenden Eiweiß-Verlustes begrenzt werden. Es herrscht heute breite Übereinstimmung dahingehend, dass täglich etwa 1,2 bis 1,5 g Protein pro Kg Körpergewicht zugeführt werden sollten. Allerdings beruhen diese Empfehlungen auf Untersuchungen des Gesamtkörper-Eiweiß-Bestandes, der unter der Zufuhr derartiger Proteinmengen optimal konserviert werden kann (1-3). Nach Eingriffen am Intestinaltrakt bekommt jedoch der regionale Protein-Umsatz bzw. Aminosäure-Stoffwechsel eine besondere Bedeutung. Der effiziente Aufbau von neuem Eiweiß in der verletzten Region ist für die intestinale Wundheilung essentiell, da sich nur dadurch die am Intestinum erforderlichen hohen Raten der Zellproliferation bzw. –Teilung aufrecht erhalten lassen (4, 5). Schon seit langem ist bekannt, dass die Ernährung grundsätzlich eine der zentralen Determinanten der intestinalen Funktion darstellt. Dieser Zusammenhang lässt sich eindrucksvoll daran zeigen, dass eine über einen längeren Zeitraum nicht ausreichende Eiweißzufuhr am Intestinaltrakt zu typischen strukturellen sowie funktionellen Veränderungen führt. Derartige Veränderungen äußern sich vor allem in einer Atrophie der Mukosa (6). Bemerkenswert ist dabei, dass die nicht ausreichende Eiweiß-Zufuhr bereits für sich alleine – und zwar unabhängig von der Kalorienzufuhr – zu solchen spezifischen Veränderungen an der Mukosa führen kann.

Die Auswirkungen eines chronischen Eiweißmangels auf die intestinale Morphologie und Funktion können eindrucksvoll an den klinischen Krankheitsbildern des Marasmus und Kwashiorkor studiert werden. Diese Syndrome beschreiben eine schwere kindliche

Mangelernährung, die heutzutage hauptsächlich in Dritte-Welt-Ländern anzutreffen ist, und die mit spezifischen intestinalen Symptomen (ödematöse bzw. nicht-ödematöse Form) assoziiert ist. Früher glaubte man, dass es sich bei Marasmus und Kwashiorkor um zwei völlig unterschiedliche Krankheitsbilder handelte, heute werden diese nur als verschiedene Krankheitsformen innerhalb eines weiten Spektrums von Eiweiß- oder Makronutrient-Mangelzuständen angesehen. Marasmus bzw. die nicht-ödematöse schwere kindliche Mangelernährung beschreibt dabei den Zustand eines chronischen, balanzierten Kalorien- und Eiweiß-Defizits, das mit einer vergleichsweise hohen Eiweiß-Abbaurate im Körper und Eiweiß-Syntheserate in der Leber assoziiert ist. Bei Kwashiorkor oder ödematöser schwerer kindlicher Mangelernährung finden sich niedrigere Eiweiß-Umsatzraten, gleichzeitig besteht jedoch ein relativ selektiver, schwererer Eiweiß-Mangel. Dabei ist jedoch die Gesamtkalorienzufuhr in der Regel ausreichend (7-10).

Interessanterweise ist bei den ödematösen Formen der schweren kindlichen Mangelernährung (Kwashiorkor) die Dünndarmfunktion in einem größeren Ausmaß gestört als bei den nicht-ödematösen Formen (Marasmus). So finden sich bei Patienten mit Marasmus üblicherweise nur umschriebene anatomische Veränderungen und funktionelle Defizite, die die Resorptionskapazität nur in einem geringen Ausmaß beeinträchtigen. Bei Kwashiorkor hingegen sind ausgeprägte Veränderungen der intestinalen Mukosa häufig (z.B. Ulzerationen, ausgedehnte Mukosazerstörungen oder –Defekte, bzw. Enzymmangelzustände). Diese eindeutig pathologischen Veränderungen führen zu einer signifikanten Malabsorption mit konsekutiven Durchfällen und intestinalem Stickstoff-Verlust (7-9). Die Bandbreite der Veränderungen, die für die schweren kindlichen Mangelernährungs-Syndrome beschrieben ist, entspricht dabei ziemlich exakt dem Ausmaß der Störungen, wie sie beim Erwachsenen in Verbindung mit Makronutrient-Mangelzuständen auftreten können (6).

Die Mechanismen, die bei den ödematösen Formen der schweren kindlichen Mangelernährung zur den gravierenden Störungen der intestinalen Funktion führen, sind

wahrscheinlich multipel. Als Hypothese wird derzeit eine inadäquate Adaption an Schwankungen der Kalorienzufuhr, bzw. eine gestörte Fähigkeit, Antioxidantien synthetisieren zu können diskutiert. Eine zentrale Bedeutung besitzt aber wahrscheinlich die Art des Substratdefizits (selektives Eiweiß-Defizit) (7-10).

Um derartig schwere Mukosa-Pathologien zu verhindern, ist somit eine ausreichende orale/enterale Zufuhr von Eiweiß unerlässlich. Das Funktionieren der Nahrungsaufnahme ist jedoch primär an eine normale Resorptionskapazität und an eine ungestörte Motilität des Gastrointestinaltraktes gebunden. Gerade nach abdominalchirurgischen Eingriffen toleriert jedoch ein substantieller Teil der operierten Patienten die orale/enterale Ernährung nicht oder nur schlecht (postoperative Motilitätsstörungen, anatomische Probleme), und benötigt deswegen eine parenterale Substratzufuhr (11). Bis heute gibt es jedoch nur sehr wenige Studien, die gezielt am Menschen die Einflüsse der parenteralen Substratzufuhr auf den Eiweiß-Stoffwechsel des Intestinaltraktes oder des Splanchnikus-Gebietes untersucht hätten (12-19). Speziell für die postoperative Situation (große abdominalchirurgische Eingriffe) gibt es bis heute keine einzige Studie, die sich mit der Frage beschäftigt hätte, ob die derzeit übliche parenterale Aminosäuren-Dosierung für die postoperativen Anforderungen des intestinalen Stoffwechsels ausreichend ist.

Festzustellen ist allerdings, dass diesbezüglich eine Vielzahl an tierexperimentellen Untersuchungen (überwiegend an Nagetieren) vorliegt. Diese tierexperimentellen Untersuchungen zeigen übereinstimmend, dass – im Gegensatz zur enteralen Ernährung - die parenterale Substrat- und Aminosäurezufuhr nicht in der Lage ist, die Funktionstüchtigkeit des Intestinaltraktes aufrecht zu erhalten. Regelhaft können eine Mukosa-Atrophie, ein Mangel an Verdauungsenzymen und eine pathologisch veränderte Mukosa-Morphologie nachgewiesen werden (20). Bei der Interpretation dieser Ergebnisse müssen jedoch zahlreiche Speziesunterschiede berücksichtigt werden, die eine Extrapolation der tierexperimentellen Daten auf die Biologie des menschlichen Intestinaltraktes verhindern

(21). Die (wenn auch nur spärliche) Information, die für Menschen vorliegt, lässt nicht erkennen, dass die parenterale Substratzufuhr unter klinischen Bedingungen ähnliche dramatische Nebenwirkungen besitzen würde, wie sie im Tiermodell gefunden wurden (22).

Allerdings gilt diese Aussage nur für Menschen, die zu Beginn der parenteralen Ernährung nicht mangelernährt waren. Bis heute ist unklar, wie sich der menschliche Intestinaltrakt bei parenteraler Ernährung verhalten würde, wenn bereits ein erhöhtes Risikoprofil (Operation, Mangelernährung, gestörte intestinale Makro- oder Mikrozirkulation) vorliegt.

In der vorliegenden Studie sollte im humanbiologischen Experiment untersucht werden, in wieweit die parenterale Zufuhr von Aminosäuren in der gegenwärtig empfohlenen Dosierung in der Lage ist, die postoperative Eiweiß-Synthese im Dünndarm zu beeinflussen. Die Untersuchungen wurden dabei an Patienten in der späten postoperativen Phase durchgeführt, in der die katabolen Reaktionen des Körpers am stärksten ausgeprägt sind.

2. Fragestellung

Unter Verwendung der Stabile-Isotopen-Technik sollten folgende Fragestellungen beantwortet werden:

- 1.) Wie verhält sich die postoperative intestinale Proteinsyntheserate des Ileums in vivo und in situ während einer akuten Nüchternphase?
- 2.) Wie beeinflusst eine parenterale Aminosäuren-Zufuhr die Proteinsyntheserate des Dünndarms im gleichen Zeitraum?

3. Patientengut und Methodik

3.1 Patientengut

Die Studie wurde an zwei Patientengruppen mit Rektumkarzinomen (Kontrollgruppe, n=8, Aminosäuren-Infusion, n=8) durchgeführt. Alle Patienten wurden sorgfältig anamnestiziert und körperlich bzw. anhand von Routine-Bluttests untersucht. Bei allen Patienten war eine kurative, tiefe anteriore Rektumresektion durchgeführt worden, wobei gleichzeitig ein protektives temporäres doppeläufiges Ileostoma angelegt worden war. Die Patienten waren hinsichtlich ihres Alters (Kontrollgruppe 65 ± 4 Jahre, Aminosäuren-Infusion 63 ± 2), Body Mass Index (Kontrollgruppe $25 \pm 1 \text{ kg cm}^{-2}$, Aminosäuren-Infusion 25 ± 1) und postoperativen Tumorstadiums (Dukes B) vergleichbar (Tabelle 1). Präoperativ bestand bei keinem Patienten eine Stoffwechselerkrankung oder andere klinisch bedeutsame Komorbiditäten. Eine präoperative Mangelernährung konnte anhand eines über zwei Monaten stabilen Körpergewichtes, anhand von normalen Plasma-Albuminkonzentrationen, und mittels Subjective Global Assessment ausgeschlossen werden. Perioperativ erhielt kein Patient Medikamente mit potentiellen Auswirkungen auf den Substratstoffwechsel.

Das perioperative Management war bei allen Patienten vergleichbar und beinhaltete eine präoperative Darmvorbereitung (orthograde Darmspülung mittels oraler Applikation von Koloskopielösung) und eine intraoperative i.v. Antibiotika-Prophylaxe. Die Anästhesie beinhaltete die peridurale Gabe von Analgetika und Anästhetika, die bis zum 5. postoperativen Tag weiter geführt wurde. Bei beiden Patientengruppen waren der intraoperative Blutverlust, die Höhe der perioperativen Flüssigkeitszufuhr und das Ausmaß des chirurgischen Traumas vergleichbar. Der postoperative Verlauf war bei allen Patienten

komplikationslos. Zum Zeitpunkt der Studie bestand bei keinem Patienten ein Organversagen oder die Anzeichen einer örtlichen oder systemischen Infektion.

Die Patienten wurden zwischen dem 8. und 10. postoperativen Tag untersucht. In diesem Zeitraum erreichen die katabolen Reaktionen des Organismus (Eiweißverlust, Einschränkung der muskulären Proteinsynthese) ihr Maximum (23, 24). Anhand von klinischen und biochemischen Untersuchungen war sicher gestellt, dass zum Zeitpunkt der Studie die Symptome der postoperativen systemischen inflammatorischen Reaktion (SIRS) einschließlich Fieber und Leukozytose abgeklungen waren. Alle Patienten befanden sich in einer vergleichbaren Phase ihrer körperlichen Rehabilitation.

Von allen Patienten lag nach vorhergehender Aufklärung eine schriftliche Zustimmung zur Studie vor. Die Studie war durch die Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät der LMU genehmigt (Protokoll Nr. 134/97).

3.2 Studienprotokoll

Alle Patienten befanden sich postoperativ auf der chirurgischen Normalstation. Die postoperative Ernährung wurde von einem Ernährungsteam überwacht. Primäres Ziel war es, zwischen dem 1. und 3. postoperativen Tag täglich $1.2 \text{ g Protein kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$, und $15 \text{ kcal kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ zuzuführen. Danach wurde die Kalorienzufuhr bis zum Studientag auf $25 \text{ kcal kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ gesteigert. Bei unzureichender spontaner oraler Nahrungsaufnahme erfolgte in diesem Zeitraum die parenterale Zufuhr von fehlenden Kalorien oder Aminosäuren. In den Tagen vor der Studie war dabei die durchschnittliche Kalorien-/Eiweiß-Zufuhr zwischen beiden Studiengruppen vergleichbar.

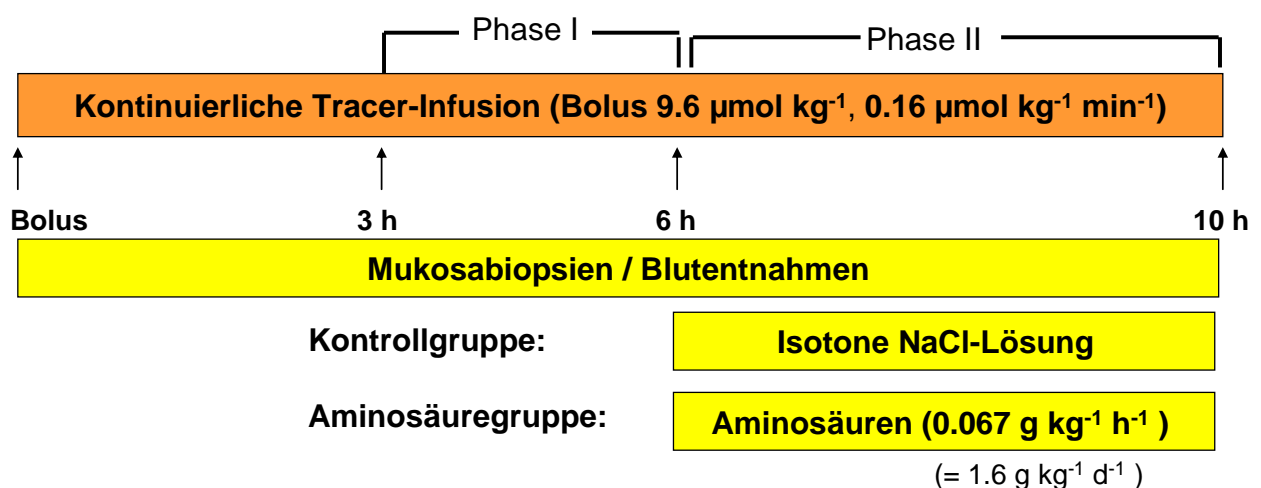
Ab 22 Uhr am Abend vor dem Studientag blieben die Patienten bis auf die Zufuhr von Mineralwasser nüchtern. Um 7 Uhr am Morgen des Studientages wurde mit der intravenösen Zufuhr einer mit einem stabilen Isotop markierten Aminosäure begonnen (1-[¹³C]-Leuzin, Tracer Technologies, Sommerville, Massachusetts, USA, 99.3 atom % enrichment), die Infusion wurde für die nächsten 10 Stunden fortgeführt. Die Infusionsrate betrug 0.16 $\mu\text{mol kg}^{-1} \text{ min}^{-1}$, wobei unmittelbar vor Beginn der Tracerinfusion ein Tracerbolus (9.6 $\mu\text{mol kg}^{-1}$) verabreicht wurde (Abbildung 1).

Abbildung 1:

Versuchsablauf

Studienaufbau

- Nüchtern ab 22 Uhr des Vortages
- Wasser + ungesüßter Tee erlaubt



Vor Beginn der Tracerinfusion wurde eine Blutprobe entnommen um die Hintergrundanreicherung des Tracers im freien Plasma-Leuzin zu bestimmen. Die Hintergrundanreicherung im Plasma wurde als Indikator für die Hintergrundanreicherung im Dünndarmprotein und im Pool des freien intrazellulären Leuzins im Ileum benützt (25). Bei allen Patienten wurde die erste arterialisierte Blutprobe bzw. Mukosabiopsie 180 min nach Beginn der Tracerinfusion, die zweite nach 360 min und die dritte nach 600 min entnommen. Phase I dauerte dabei von min 180 bis 360, und Phase II von min 360 bis 600. Zwischen min 360 und 600 (nach der zweiten Biopsie, Phase II) erhielten die Patienten in der Aminosäure-Gruppe eine kontinuierliche Infusion einer kommerziellen Glutamin-haltigen Aminosäure-Lösung (Parentamin®/Dipeptamin®, Serag-Wiessner, Naila, Deutschland oder Fresenius-Kabi, Bad Homburg, Deutschland). Die Aminosäure-Zufuhr rate belief sich dabei auf $67 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, wobei der Anteil von Alanyl-Glutamin oder Glycyl-Glutamin jeweils $15 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ betrug. Die Patienten in der Kontrollgruppe blieben während des gesamten Untersuchungszeitraums nüchtern (Zufuhr nur von isotonischer Kochsalzlösung). Der minimale Abstand zwischen zwei Mukosa-Biopsien betrug dabei 2 cm. Das mittlere Biopsie-Gewicht belief sich auf 10 mg Feuchtgewicht. Alle Biopsien wurden mittels einer Biopsiezange aus einem Segment des Ileums entnommen, welches in der Bauchdecke lokalisiert war. Patienten, bei denen im Bereich des Stomas ein Mukosa-Ödem, Nekrose, Blutung oder Fehlfunktion irgendeiner Art bestand, waren von der Studie ausgeschlossen. War die Mukosafunktion unklar, so wurde mittels Laser-Doppler Flow-Metry untersucht, ob das Flussmuster in der Mukosa normal war (26).

3.3 Analytische Methoden

Die Prinzipien der analytischen Methoden und die Erzeugung der Daten wurden bereits in zwei vorangegangenen Dissertationen der gleichen Arbeitsgruppe ausführlich dargestellt und diskutiert (27, 28). Aus diesem Grund soll an dieser Stelle nur noch eine kurze Zusammenfassung erfolgen.

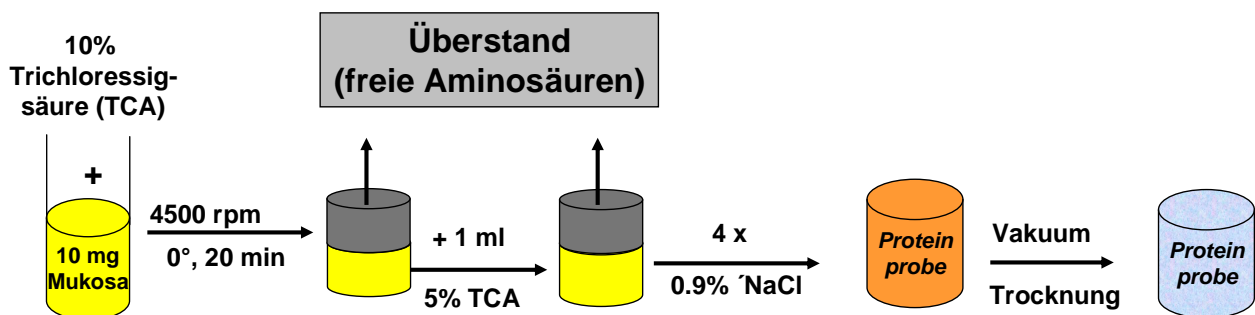
In den Mukosa-Biopsien wurden zunächst die freien zytosolischen Aminosäuren und die im Ileum-Protein gebundenen Aminosäuren mittels Eiweiß-Präzipitation voneinander getrennt (Abbildung 2). Nach Hydrolyse der Proteine aus der Ileum-Mukosa erfolgte dann die Reinigung der freigesetzten Aminosäuren mittels Kationen-Austausch-Chromatographie (Abbildung 3). Die so gereinigten, ehemals proteingebundenen Aminosäuren wurden dann für die massenspektrometrische Analyse in einen N-acetyl-N-propyl (NAP) Ester überführt. Die Anreicherung in den NAP-Leuzin-Derivaten wurde mittels Gaschromatographie-Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie (GC-IRMS) bestimmt. Zur Anwendung kam ein kapilläres GC/Verbrennungs IRMS System, das aus einem Hewlett-Packard 5890 Series II Gaschromatographen (Hewlett-Packard, Böblingen, Deutschland) bestand, der über ein Interface mit einem Massenspektrometer Delta S (Finnigan MAT, Bremen, Deutschland) verbunden war (Abbildung 3).

Abbildung 2:

Aufarbeitung der Mukosa-Biopsien: Trennung des Mukosa-Eiweiß von den freien intrazellulären Aminosäuren

Analytik I

a) Eiweiß-Extraktion aus der Mukosa



Die zuvor in der Biopsie abgetrennten freien zytosolischen Aminosäuren wurden ebenfalls zunächst mittels Kationen-Austausch-Chromatographie gereinigt (Abbildung 4). Die so gereinigten freien Aminosäuren wurden dann für die massenspektrometrische Analyse in ein tert-butyldimethylsilyl (t-BDMS) Derivat überführt (Silylierung). Zur Bestimmung der Tracer-Anreicherung in den t-BDMS-Derivaten wurde ein Gaschromatograph-

Massenspektrometer (GC/MS) MSD 5971D (Hewlett-Packard, Böblingen, Deutschland) verwendet. Um dabei das Isotopenverhältnis in einer Probe zu bestimmen, analysierten wir nach Ionisierung der Derivate mittels Elektronenbeschuss das Isotopomer-Verhältnis ($M+1/M$) zwischen den Ionenfragmenten 303 und 302. Die mittels GC/IRMS und GC/MS gewonnenen Daten wurden alle in Form von Tracer/Tracee Verhältnissen (z = Quotient zwischen der Menge an markiertem Tracer und der Menge an nicht markierten Aminosäuren im Pool) dargestellt.

Die Aminosäurekonzentrationen wurden in den Blutproben bestimmt, die zeitgleich zu den Mukosabiopsien abgenommen worden waren. Die Konzentrationen wurden mittels eines Autoanalysers (Beckman Instruments, Fullerton, CA, USA) gemessen.

Abbildung 3:

Aufarbeitung der Mukosa-Biopsien: Hydrolyse von Mukosa-Eiweiß, Reinigung und Veresterung der freigesetzten Aminosäuren

Analytik II

b) Aminosäure-Purifikation und Aufbereitung für die Messung der Anreicherung

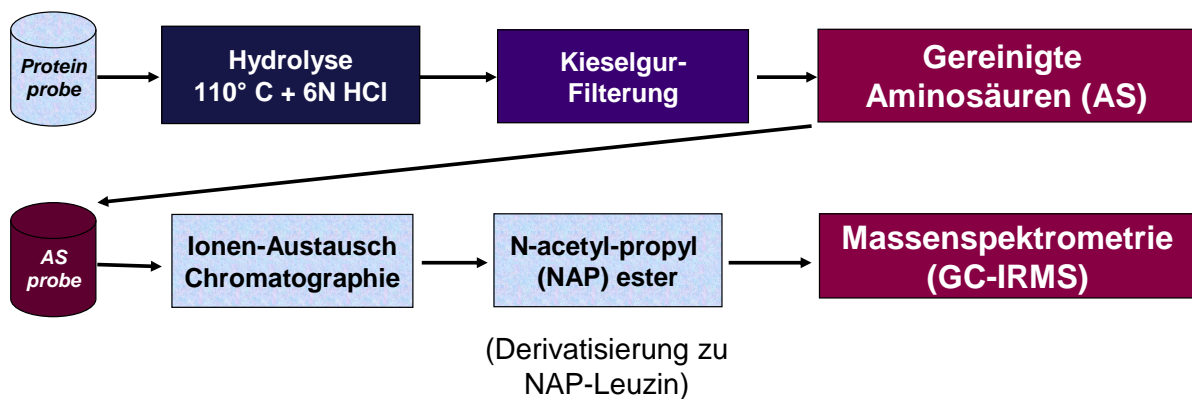
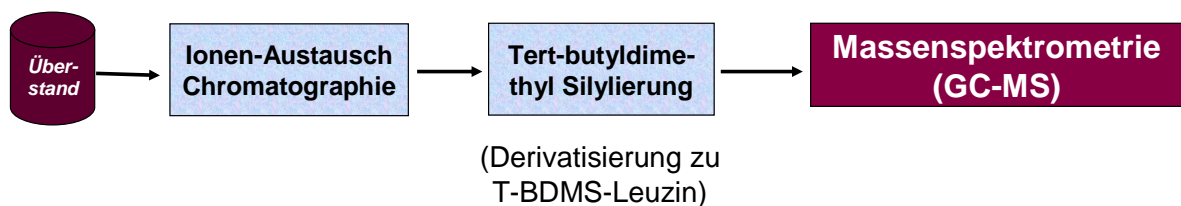


Abbildung 4:

Aufarbeitung der Mukosa-Biopsien: Reinigung und Derivatisierung der freien intrazellulären Aminosäuren

Analytik III

Bestimmung des Mukosa-Tracerangebotes
(= Präkursorpoolanreicherung = ^{13}C -Leuzin-Anreicherung im Pool der freien Mukosa-Aminosäuren (Überstand))



3.4 Berechnungen

Zur Berechnung der fraktionellen Proteinsyntheseraten muss die Geschwindigkeit der Tracer-Inkorporation im Mukosaprotein auf das Tracer-Angebot in der Mukosa bezogen werden. Um dieser Anforderung gerecht zu werden, wurde der Anstieg des Tracer/Tracee-Verhältnisses im proteingebundenem 1- ^{13}C -Leuzin (z_{prot}) während des

Untersuchungszeitraums durch die mittlere Präkursorpool-Anreicherung im Untersuchungszeitraum geteilt (29) (Abbildung 5).

Abbildung 5:

Prinzip der Berechnung der fraktionellen Proteinsyntheserate

$$\text{Fraktionelle Protein-Syntheserate (FSR)} \quad (\%/h) = \frac{\text{Anstieg der } \underline{\text{Traceranreicherung}} \quad \underline{\text{(1-}^{13}\text{C-Leucin)}} \quad \underline{\text{in Mukosaprotein}} \text{ im Untersuchungszeitraum}}{\text{Durchschnittliches } \underline{\text{Mukosa}} \quad \underline{\text{Tracer-Angebot}} \text{ im Untersuchungszeitraum}}$$

Als Surrogat-Variable für die echte Präkursorpool-Anreicherung (Anreicherung in der t-RNA-gebundenen Aminosäure) diente das nach Gewebe-Homogenisierung gemessene 1- ^{13}C -Leuzin Tracer/Tracee-Verhältnis (z_{AA}) im Pool der freien, ungebundenen Aminosäuren der Mukosa (30).

z_{prot} kann nicht direkt aus den Ergebnissen der GC/IRMS Messungen gewonnen werden. Die GC/IRMS Analyse ergab als Rohwerte sog. $\Delta^{13}\text{C}$ -Werte, welche in ein Isotopenverhältnis ($^{13}\text{C} / ^{12}\text{C}$) des kompletten NAP-1- ^{13}C]-Leuzins durch folgende Formel umgeformt werden mussten:

$$^{13}\text{C} / ^{12}\text{C} = (\Delta^{13}\text{C})/1000 + 1) * 0.011$$

Der Wert 0.011 entspricht dabei dem Isotopenverhältnis $^{13}\text{C} / ^{12}\text{C}$ des Pee Dee Belemite limestone (PDB) Eichgases. z_{prot} kann dann aus dem Isotopenverhältnis ($^{13}\text{C} / ^{12}\text{C}$) über einen Zwischenschritt abgeleitet werden. z_{prot} ergibt sich aus der Differenz zwischen dem Isotopenverhältnis in der Probe ($^{13}\text{C} / ^{12}\text{C}$)_P und dem Isotopenverhältnis im nicht markierten Hintergrund ($^{13}\text{C} / ^{12}\text{C}$)_H, wenn diese Differenz (die als R_{NAP} -Leuzin bezeichnet wird) mit einem Korrekturfaktor c multipliziert wird (25). Dieser Korrekturfaktor berücksichtigt die artifiziale Verminderung der Anreicherung in Position 1 des markierten NAP-Leuzinmoleküls durch unmarkierten Kohlenstoff in Position 2 bis 11 im Rahmen der Molekülverbrennung bei der IRMS Analyse. R_{NAP} -Leuzin ergibt sich somit aus

$$R_{\text{NAP}} \text{-Leuzin} = (^{13}\text{C} / ^{12}\text{C})_{\text{P}} - (^{13}\text{C} / ^{12}\text{C})_{\text{H}}$$

z_{prot} kann nun aus R_{NAP} -Leuzin anhand folgender Formel berechnet werden:

$$z_{\text{prot}} = c * R_{\text{NAP}} \text{-Leuzin} / (1 + [1 - c] * R_{\text{NAP}} \text{-Leuzin})$$

Hierbei entspricht der Korrekturfaktor c dem Wert 10.02 (25). Mittels z_{prot} kann nun bei bekannter Präkursorpool-Anreicherung (z_{AA}) die fraktionelle Proteinsynthese berechnet werden.

Anhand der GC-MS Messung ergibt sich die Präkursorpool-Anreicherung (z_{AA}) aus der Differenz zwischen dem Isotopomerverhältnis der Probe ($(\text{M}+1/\text{M})_{\text{P}}$) und dem Isotopomerverhältnis im nicht markiertem Hintergrund ($(\text{M}+1/\text{M})_{\text{H}}$) wie folgt:

$$z_{\text{AA}} = (\text{M}+1/\text{M})_{\text{P}} - (\text{M}+1/\text{M})_{\text{H}}$$

Hieraus lässt sich dann die fraktionelle Proteinsyntheserate (FSR) berechnen:

$$\text{FSR (\% h}^{-1}\text{)} = \frac{z_{\text{prot}}(t_{i+1}) - z_{\text{prot}}(t_i)}{\{z_{\text{AA}}(t_i) + z_{\text{AA}}(t_{i+1})\} / 2} \cdot \frac{1}{\Delta t} \cdot 60 \cdot 100$$

$z_{\text{prot}}(t_i)$ und $z_{\text{prot}}(t_{i+1})$ entsprechen dem Tracer / Tracee-Verhältnis des proteingebundenen Leuzins in zwei aufeinanderfolgenden Proben (i und $i+1$), die innerhalb eines Zeitintervalls Δt gewonnen wurden. $z_{\text{AA}}(t_i)$ und $z_{\text{AA}}(t_{i+1})$ repräsentieren das Tracer / Tracee-Verhältnis des freien, intrazellulären Leuzins in zwei aufeinanderfolgenden Proben. Die Faktoren 60 (min) und 100 sind erforderlich, um die fraktionelle Proteinsynthese in $\% \text{ h}^{-1}$ auszudrücken.

3.5 Statistik

Die Ergebnisse sind als Mittelwerte \pm SEM dargestellt. Geschwindigkeiten der Tracer-Inkorporation, Proteinsyntheseraten und Aminosäure-Konzentrationen wurden mittels gepaarten und ungepaarten t-Test verglichen. Ein signifikanter Unterschied wurde bei einem $p < 0,05$ angenommen.

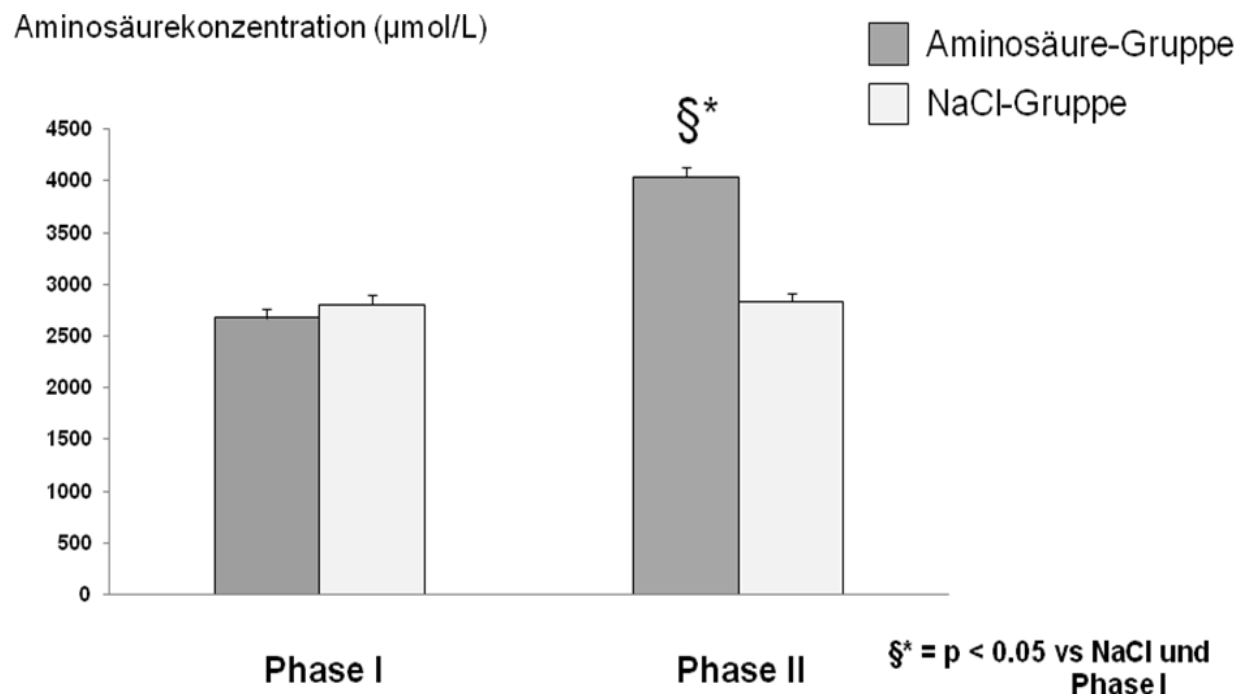
4. Ergebnisse

4.1 Aminosäure-Konzentration im Plasma

Die Aminosäure-Konzentration im Plasma der Patienten, denen Aminosäuren transfundiert worden waren, stieg während der Aminosäuren / Dipeptid-Infusion signifikant ($p < 0,05$) an (Abbildung 6). So betrug sie am Ende der Phase I (Zeitraum zwischen der ersten Biopsie, 180 Minuten und der zweiten Biopsie, 360 Minuten nach Infusionsbeginn des Tracers 1- ^{13}C]-Leuzin) $2572 \pm 81 \mu\text{mol/l}$, und erhöhte sich dann am Ende der Phase II auf einen Wert von $4243 \pm 80 \mu\text{mol/l}$. Im Kontrollkollektiv zeigte sich erwartungsgemäß keine wesentliche Änderung der Aminosäure-Konzentration im Plasma. Sie betrug $2871 \pm 83 \mu\text{mol/l}$ am Ende der Phase I und $2921 \pm 86 \mu\text{mol/l}$ am Ende der Phase II. Hieraus ergab sich ein signifikanter Unterschied der Aminosäure-Konzentration im Plasma am Ende der Phase II zwischen der Kontrollgruppe und den Patienten, die eine Aminosäuren / Dipeptid-Infusion erhalten hatten ($p < 0,05$).

Abbildung 6:

Aminosäure-Konzentration in der Kontrollgruppe und in der Aminosäure-Gruppe. In Phase II der Studie erhielten die Patienten der Aminosäure-Gruppe 67 mg Aminosäuren $\text{kg}^{-1} \text{h}^{-1}$. In der Kontrollgruppe wurde physiologische Kochsalzlösung infundiert.



4.2 Anreicherung im Präkursorpool für die Mukosa-Proteinsynthese

Die in Abbildung 7 und Tabelle 2 dargestellten Werte zeigen das Isotopomer – Verhältnis im Präkursorpool ($M+1/M$). Dies kann unter Berücksichtigung der natürlichen Hintergrundanreicherung in das jeweilige Tracer / Tracee Verhältniss (z_{AA}) umgewandelt werden. Letzteres entspricht der 1- $[^{13}\text{C}]$ -Leuzin Anreicherung im Pool der freien, intrazellulären Aminosäuren. Die Tracer / Tracee – Verhältnisse sind in Abbildung 8 und Tabelle 3 dargestellt und zeigen sowohl in der Kontroll- wie auch in der Untersuchungsgruppe in allen drei Biopsien (nach 180, 360 und 600 Minuten) keinen signifikanten Unterschied ($p > 0,05$). Damit ist dokumentiert, dass der erforderliche metabolische Steady state, bzw. Steady state in der Präkursorpoolanreicherung während des Untersuchungszeitraums gegeben war.

Abbildung 7:

Isotopomer – Verhältnis ($M+1/M$) im Pool der freien, intrazellulären Aminosäuren der Ileum-Mukosa. In Phase II der Studie erhielten die Patienten der Aminosäure (AS) - Gruppe 67 mg Aminosäuren $\text{kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$. In der Kontrollgruppe wurde physiologische Kochsalzlösung (NaCl) infundiert.

Isotopomer-Verhältnis ($M+1/M$)

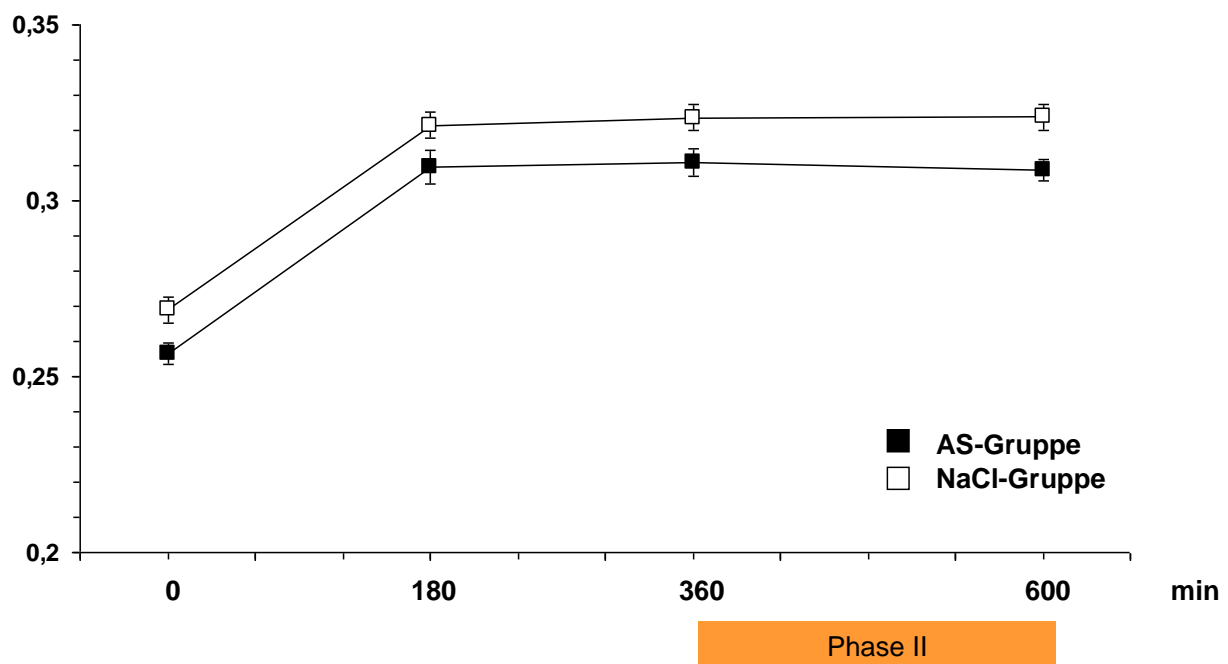
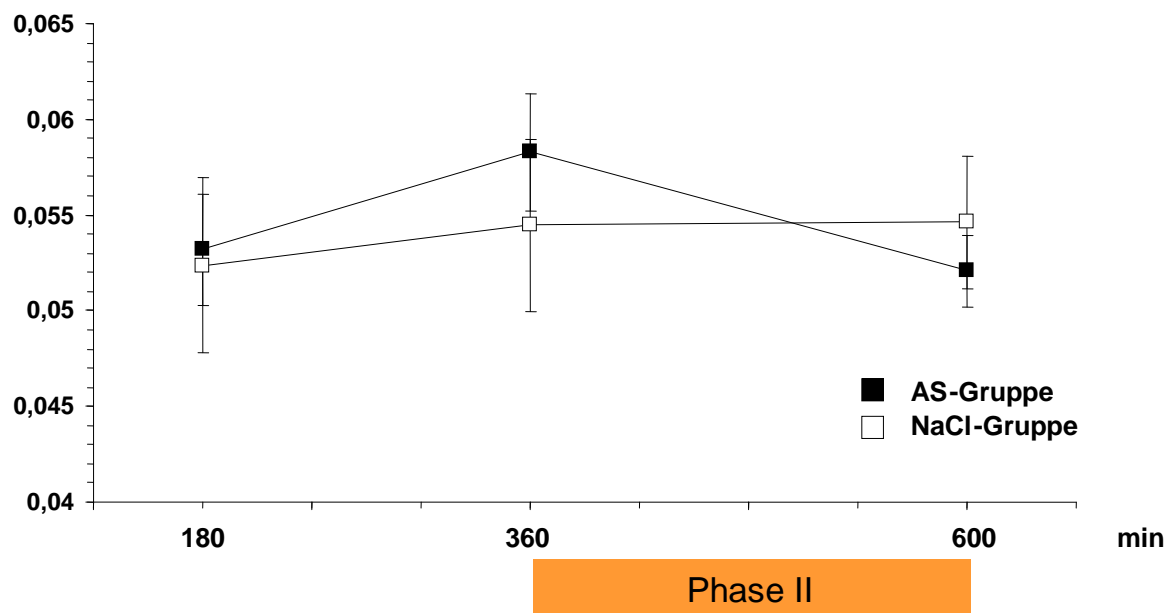


Abbildung 8:

Tracer / Tracee – Verhältnis ($1\text{-}[^{13}\text{C}]\text{-Leuzin}$ Anreicherung) im Pool der freien, intrazellulären Aminosäuren der Ileum-Mukosa (z_{AA}). In Phase II der Studie erhielten die Patienten der Aminosäure (AS) - Gruppe $67\text{ mg Aminosäuren kg}^{-1}\text{ h}^{-1}$. In der Kontrollgruppe wurde physiologische Kochsalzlösung (NaCl) infundiert.

Tracer / Tracee Verhältnis für ^{13}C -Leuzin



4.3 Anreicherung im Protein der Ileum-Mukosa

Die in Abbildung 9 und Tabelle 4 dargestellten Werte zeigen die $\Delta^{13}\text{C}$ -Werte aus dem Protein der Ileum-Mukosa. Die $\Delta^{13}\text{C}$ -Werte können in ein Isotopenverhältnis ($^{13}\text{C} / ^{12}\text{C}$) des kompletten NAP-1- ^{13}C -Leuzins umgeformt werden. Die zugehörigen Werte sind in Abbildung 10 und Tabelle 5 dargestellt. Das Isotopenverhältnis ($^{13}\text{C} / ^{12}\text{C}$) des kompletten NAP-1- ^{13}C -Leuzins kann unter Berücksichtigung der natürlichen Hintergrundanreicherung und eines Korrekturfaktors, der die Isotopenverdünnung durch die Derivatisierung berücksichtigt, in das jeweilige Tracer / Tracee Verhältnis (z_{prot}) umgewandelt werden. Letzteres entspricht der 1- ^{13}C -Leuzin Anreicherung im Protein der Ileum-Mukosa. Die Tracer / Tracee – Verhältnisse sind in Abbildung 11 und Tabelle 6 dargestellt.

In den Abbildungen 9 bis 11 lässt sich eindeutig erkennen, dass sich der Anstieg der Kurven, die die Zahlen für die Patienten in der Kontrollgruppe wiedergeben, nach min 360 der Studie verlangsamt. Unter Zufuhr von Aminosäuren ist hingegen weiterhin ein fast linearer Verlauf zu erkennen. Betrachtet man die Tracer / Tracee Verhältnisse, so findet sich bei den Patienten in der Aminosäure-Gruppe in Phase I (min 180 bis min 360) ein mittlerer prozentualer Anstieg von $0,060 \pm 0,008$ % pro Stunde. In Phase II (min 360 bis min 600, Aminosäure-Infusion) betrug der Anstieg $0,048 \pm 0,006$ % pro Stunde ($p > 0,05$). Im Gegensatz dazu kam es in der Kontrollgruppe zu einer signifikanten Verlangsamung des Anstiegs (Phase I: $0,058 \pm 0,005$ % pro Stunde; Phase II (Kochsalzinfusion): $0,022 \pm 0,005$ % pro Stunde, $p < 0,001$). Die Unterschiede zwischen den Anstiegsgeschwindigkeiten der zwei Patientengruppen in Phase II waren ebenfalls signifikant ($p < 0,01$).

Abbildung 9:

$\Delta^{13}\text{C}$ -Werte im Protein der Ileum-Mukosa. In Phase II der Studie erhielten die Patienten der Aminosäure (AS) - Gruppe 67 mg Aminosäuren $\text{kg}^{-1} \text{h}^{-1}$. In der Kontrollgruppe wurde physiologische Kochsalzlösung (NaCl) infundiert.

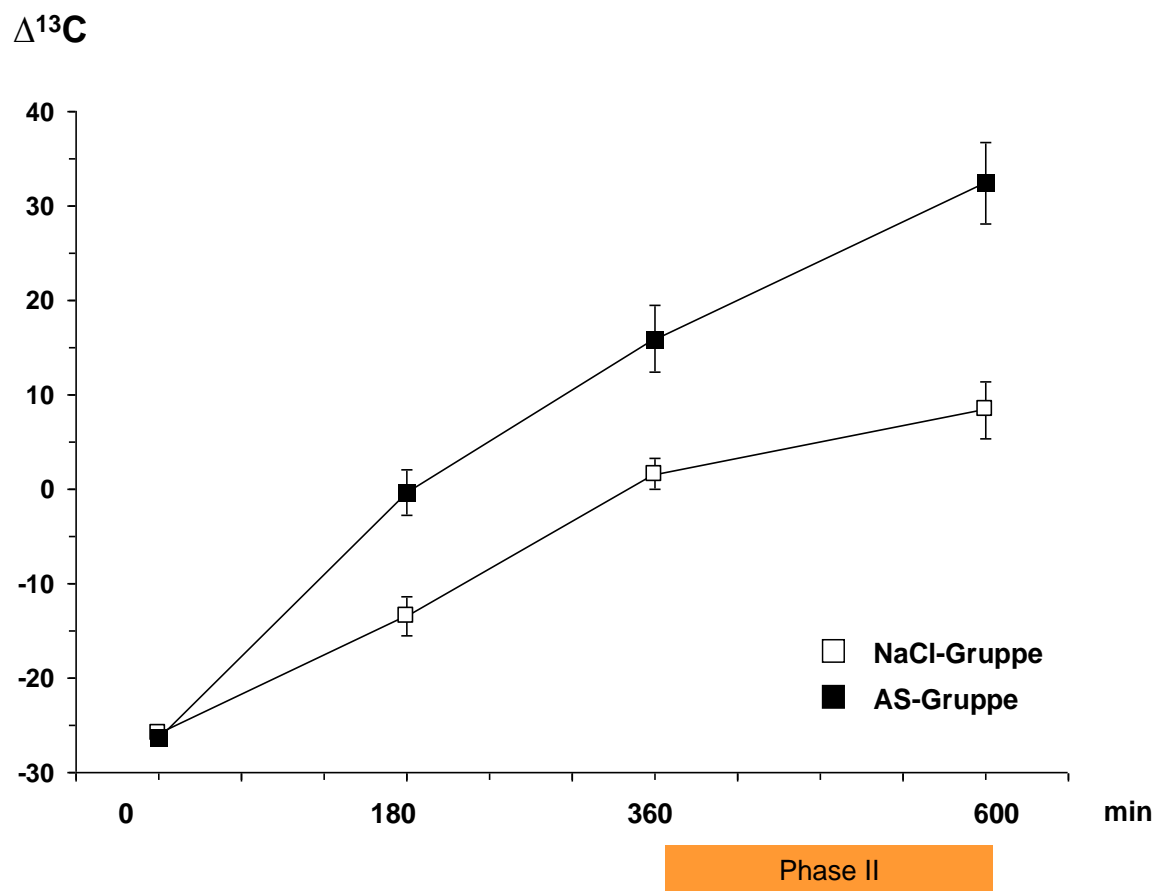


Abbildung 10:

Isotopenverhältnis $^{13}\text{C} / ^{12}\text{C}$ für NAP-1- ^{13}C -Leuzin im Protein der Ileum-Mukosa. In Phase II der Studie erhielten die Patienten der Aminosäure (AS) - Gruppe 67 mg Aminosäuren $\text{kg}^{-1} \text{h}^{-1}$. In der Kontrollgruppe wurde physiologische Kochsalzlösung (NaCl) infundiert.

Isotopenverhältnis $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ (%) für NAP-1- ^{13}C -Leuzin

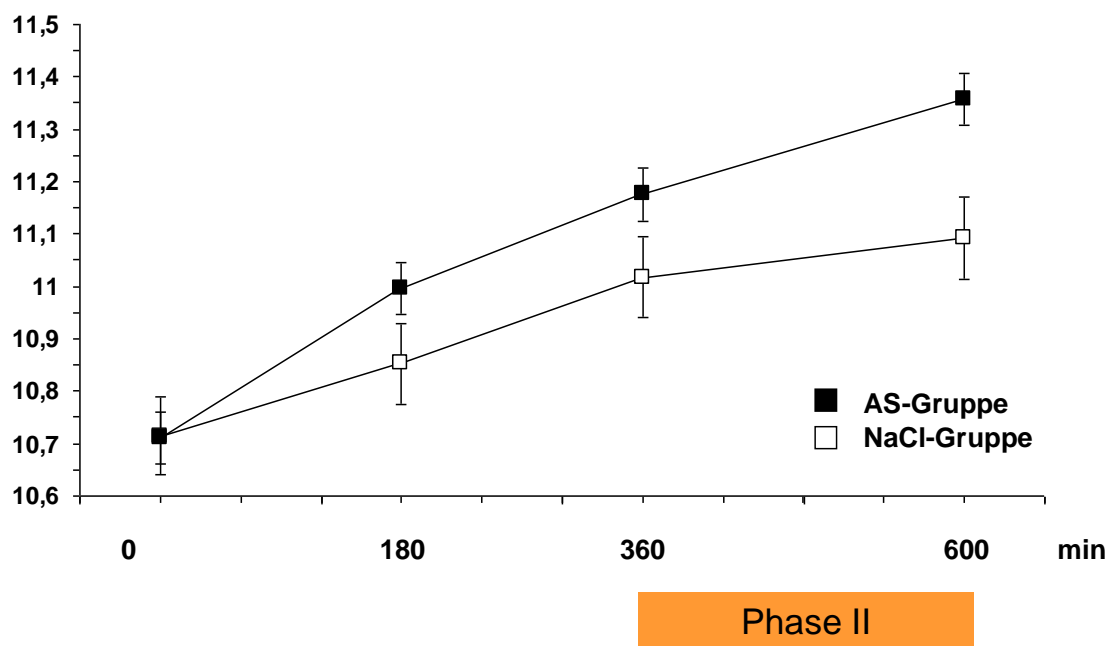
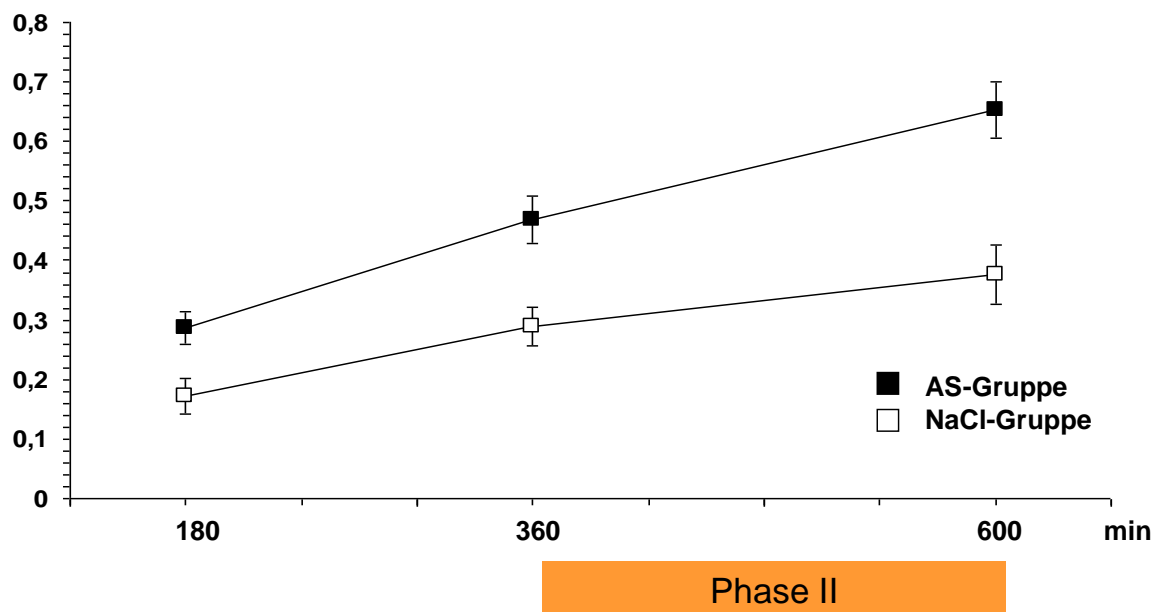


Abbildung 11:

Tracer / Tracee Verhältnis für 1-[^{13}C]-Leuzin im Protein der Ileum-Mukosa (z_{prot}). In Phase II der Studie erhielten die Patienten der Aminosäure (AS) - Gruppe 67 mg Aminosäuren $\text{kg}^{-1} \text{h}^{-1}$. In der Kontrollgruppe wurde physiologische Kochsalzlösung (NaCl) infundiert.

Tracer / Tracee Verhältnis (%) für ^{13}C -Leuzin



4.4 Fraktionelle Proteinsyntheserate der Ileum-Mukosa

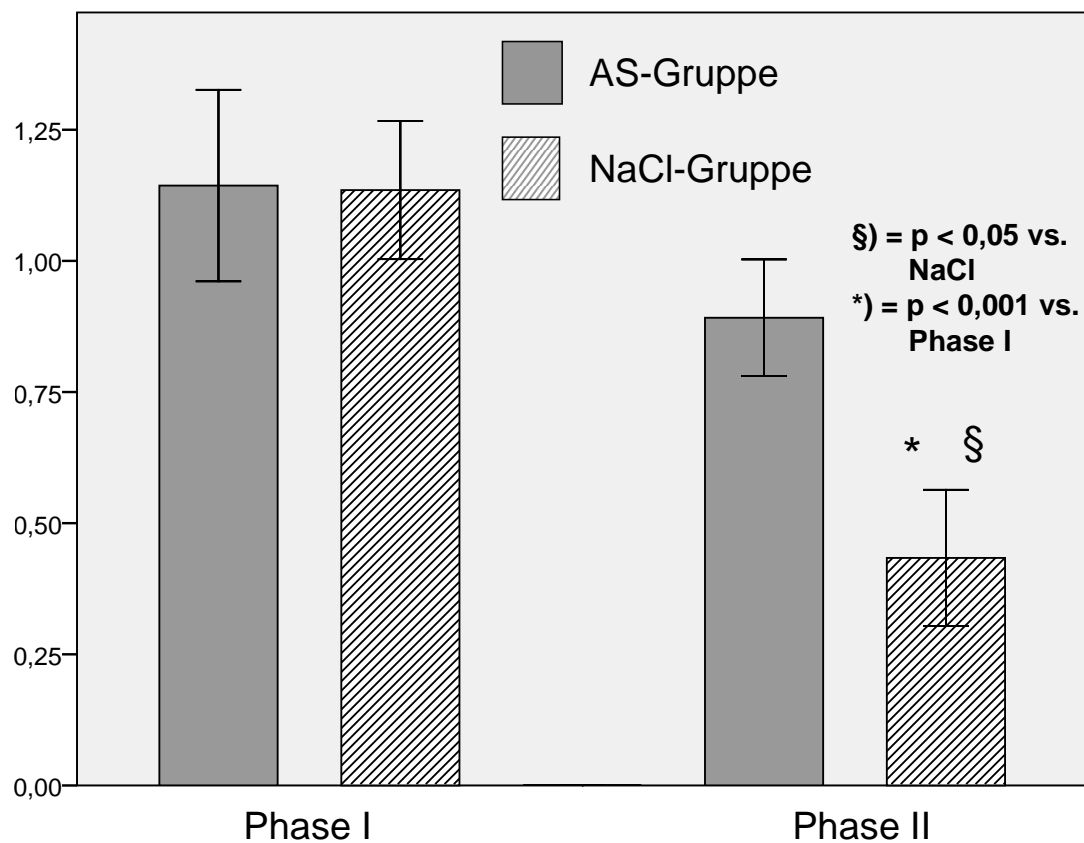
Aus den Werten für die Anreicherung im Präkursorpool (z_{AA}) sowie für die proteingebundene Anreicherung (z_{prot}) wurde die fraktionelle Proteinsyntheserate (FSR, % h^{-1}) der Ileum-Mukosa für die Phase I (Zeitraum zwischen der ersten Biopsie, 180 Minuten und der zweiten Biopsie, 360 Minuten nach Infusionsbeginn des Tracers 1- $[^{13}C]$ -Leuzin) und für die Phase II (Zeitraum zwischen der zweiten Biopsie, 360 Minuten und der dritten Biopsie, 600 Minuten nach Infusionsbeginn des Tracers 1- $[^{13}C]$ -Leuzin) berechnet (Tabelle 7).

Die fraktionelle Proteinsyntheserate der Ileum-Mukosa zeigte unter Aminosäure-Infusion während des Untersuchungszeitraumes keine signifikante Veränderung. Sie betrug am Ende der Phase I $1,14 \pm 0,17$ % h^{-1} und am Ende der Phase II $0,89 \pm 0,10$ % h^{-1} (nicht signifikant). Im Vergleich dazu konnten wir in der Kontrollgruppe einen signifikanten Abfall der fraktionierten Proteinsyntheseraten feststellen ($0,47 \pm 0,4$ % h^{-1} , am Ende der Phase II, $p < 0,001$ vs. $1,14 \pm 0,13$ % h^{-1} am Ende der Phase I, Abb. 12). Auch zwischen den beiden Patientengruppen bestand in der Phase II hinsichtlich der fraktionellen Proteinsyntheserate ein signifikanter Unterschied ($p < 0,05$).

Abbildung 12:

Fraktionelle Proteinsyntheseraten (% h⁻¹) der Ileum-Mukosa in den Patientengruppen. 1-[¹³C]-Leuzin wurde über 600 Minuten infundiert. Phase I umfasst den Zeitraum zwischen Minute 180 und 360, Phase II den Zeitraum zwischen Minute 360 und 600. In Phase II wurde entweder Kochsalz oder eine Dipeptid-haltige Aminosäure-Lösung (67 mg Aminosäuren kg⁻¹ h⁻¹) infundiert.

Fraktionelle Proteinsyntheserate (% h⁻¹)



5. Diskussion

5.1 Veränderungen der Ileum-Proteinsyntheserate während der Nüchternphase

Zur Interpretation metabolischer Effekte ist es im Rahmen des von uns verwendeten Studienaufbaus und der angewandten Studientechnik (Stabile-Isotopen-Technik) unerlässlich, zuerst die Veränderungen der Ileum-Proteinsynthese in der Kontrollgruppe (Kochsalz-Infusion) zu analysieren. Während der 10-stündigen Tracer-Infusion und bei Fehlen jeglicher Substratzufuhr beobachteten wir nämlich einen schnellen, ausgeprägten Abfall der Proteinsyntheserate, die sich signifikant von $1.14 \% h^{-1}$ (Basalperiode) auf $0.47 \% h^{-1}$ (Experimentalperiode) verringerte. In den Abbildung 9 bis 11 ist erkennbar, dass der Einbau von Tracer in Mukosaprotein in der postoperativen Kontrollgruppe (Fastenzustand) während des Experiments nicht linear erfolgte, sondern dass sich die Tracereinbaurrate zwischen der 6. und 10. Stunde der Studie verlangsamte. Diese Verlangsamung war letztendlich für den Abfall der Dünndarm-Proteinsynthese in diesem Zeitraum verantwortlich. Unter vergleichbaren Versuchsbedingungen konnten bereits früher an der Rattenleber ähnliche Beobachtungen (Verlangsamung der Tracer-Inkorporation bei kontinuierlicher, mehrstündiger Tracer-Infusion) gemacht werden (31-33).

Berücksichtigt man Daten aus der Literatur (34, 35), so kann ausgeschlossen werden, dass der von uns in der Kontrollgruppe beobachtete rasche Abfall der Ileum-Proteinsynthese durch die 10-stündige Fastenperiode hervorgerufen wurde. Anhand publizierter Daten, die mit anderen Methoden/Versuchsaufbauten gewonnen worden waren, lässt sich berechnen, dass die Proteinsyntheserate im menschlichen Dünndarm bei fehlender Nahrungszufuhr nur um etwa 1.3 % pro Stunde abfällt. Bezogen auf eine Versuchsdauer von 10 Stunden wäre somit

nur ein maximaler Abfall um ca 13 % zu erwarten, und nicht um fast 60 % wie von uns in der Kontrollgruppe beobachtet.

Es stellt sich somit die auch für die Interpretation metabolischer Effekte zentrale Frage, wie dieser scheinbar massive Abfall der Dünndarm-Proteinsyntheserate während einer vergleichsweise kurzen Fastenperiode zustande kam. Ein Hinweis auf die Erklärung dieser überraschenden Befunde findet sich bei den bereits erwähnten Experimenten an der Rattenleber (31). Die Autoren konnten nämlich zeigen, dass unter kontinuierlicher Tracerinfusion sog. Pool-Phänomene auftreten können, die die berechneten Syntheseraten verfälschen können. Dieses Pool-Phänomen beruht im Wesentlichen darauf, dass in einem anatomisch umschriebenen Gewebe (z.B. Dünndarmmukosa) unterschiedliche Eiweiß-Pools mit unterschiedlichen Eiweiß-Umsatzraten und dementsprechend unterschiedlichen Tracer-Einbauraten zeitgleich vorhanden sind (31). Für die Praxis der Isotopen-Technik ist dabei die Größe der jeweiligen Pools von zentraler Bedeutung. Dass neben den Eiweiß-Pools mit vergleichsweise langsamen Umsatzraten auch relevante Pools mit schnellerem Umsatz existieren, konnte für die Leber von Nagetieren und Hunden (32, 36), für den Dünndarm von Nagetieren und Menschen (37, 12), und für den intestinalen Bürstensaum (38) gezeigt werden.

Um die Stoffwechsel-unabhängige Verlangsamung der Tracer-Inkorporation in einem umschriebenen Gewebe (Dünndarm-Mukosa) über einen bestimmten Zeitraum anhand von Pool-Effekten erklären zu können, sind mathematische Überlegungen nötig. Zunächst muss man sich vorstellen, dass die Tracer-Anreicherungen, wie sie von uns in einer Mukosa-Biopsie gemessen wurden, eine Mischung von verschiedenen Anreicherungen darstellen. Diese gemischten Anreicherungen stellen die Summe aller Einzel-Anreicherungen dar, die zu einem bestimmten Zeitpunkt in den verschiedenen Pools eines Gewebes bestehen (33).

Als nächstes ist zu berücksichtigen, dass die Umsatzraten individueller Proteine zwischen wenigen Minuten und vielen Tagen schwanken können (36, 39, 40). Diese

Schwankungen führen damit in den einzelnen Pools zu unterschiedlichen Plateau-Zeiten. Unter der Plateau-Zeit eines Pools versteht man die Zeit, die während einer kontinuierlichen Tracer-Infusion vergeht, bis die Anreicherung im Eiweiß des Pools die Anreicherung im zugehörigen Präkursorpool für die Eiweißsynthese erreicht hat. Der Präkursorpool für die Eiweißsynthese ist üblicherweise der Pool der Amino-acyl-t-RNA. In unserem Fall (unter Verwendung des Tracers 1- ^{13}C -Leuzin) haben wir als etablierte Surrogat-Variable für die Präkursorpool-Anreicherung die 1- ^{13}C -Leuzin-Anreicherung im intestinalen Zytosol (freie Aminosäure-Anreicherung) gemessen (30). Bei kontinuierlicher Tracer-Applikation (mit vorangegangener Applikation eines Tracer-Bolus) und unter Verwendung der von uns applizierten Tracer-Dosis wird zwei bis drei Stunden nach Infusionsbeginn eine dann im weiteren Zeitraum konstante Anreicherung im Präkursorpool erreicht (Abbildungen 7 und 8). Diese im Versuchszeitraum konstante Anreicherung im Präkursorpool stellt damit auch die maximale Anreicherung dar, die – nach „Durchmarkierung“ aller Proteine – im Eiweiß-Pool erreicht werden kann. Ist diese maximale Anreicherung im Eiweiß-Pool erreicht, so besteht hier ein sog. Anreicherungs-Plateau. Die Plateau-Zeit beschreibt die Zeit, die bis zum Erreichen der maximalen Anreicherung im Protein eines Pools vergeht. Wichtig ist es, dabei zu wissen, dass die Anreicherung im Präkursorpool im Prinzip für alle Eiweiß-Pools (unabhängig von den jeweiligen Umsatzraten) gleich ist.

Somit ist es offensichtlich, dass bei kontinuierlicher Tracer-Applikation und in Abhängigkeit von den jeweiligen Umsatzraten eines Pools die Zeit äußerst verschieden sein kann, nach der alle Proteine eines individuellen Pools markiert sind und nach der sich die Plateau-Anreicherung im Protein eines individuellen Pools einstellt. Daraus ergibt sich auch zwangsweise, dass die zu einem bestimmten Zeitpunkt gemessene Anreicherung in einem „gemischten“ Pool (z.B. Mukosa) nicht nur die summarische Anreicherung verschiedener Einzel-Pools reflektiert, sondern auch die summarische Dynamik der Anreicherungs-Zunahme in den verschiedenen Einzel-Pools. So kann zu einem bestimmten Messzeitpunkt die

Anreicherung in einem Eiweiß-Pool schon ein Plateau erreicht haben, während sie in einem anderen, langsameren Pool noch am steigen ist.

Die Dynamik der Anreicherungs-Zunahme in den einzelnen Pools wird aus Sicht der Dateninterpretation dann relevant, wenn die Anreicherung in den Proteinen eines Einzel-Pools bereits während eines Experiments (unter laufender Tracer-Infusion) schon ihr Plateau erreicht und wenn dieser Einzel-Pool (mit vergleichsweise schnellem Eiweiß-Umsatz) eine ausreichende Masse besitzt. Am Anfang der Tracer-Infusion tragen zunächst alle Eiweiß-Pools zum Anstieg der summarischen Tracer-Anreicherung in einem Gewebe (oder Biopsie) bei. Erreicht nach einer gewissen Zeit die Anreicherung in einem Pool mit schnellem Eiweiß-Umsatz ihr Plateau, so wird im weiteren Verlauf des Experiments der Anstieg der summarischen Tracer-Anreicherung nur noch durch die Pools bestimmt, in denen das Plateau noch nicht erreicht wurde. Die Einzel-Pools mit vergleichsweise schnellem Eiweiß-Umsatz können ab diesem Zeitpunkt nichts mehr zum Anstieg der summarischen Tracer-Anreicherung beitragen. Werden konsekutiv summarische Tracer-Anreicherungen im Gewebe gemessen, und hat der Eiweiß-Pool mit vergleichsweise schnellem Eiweiß-Umsatz eine ausreichende Masse, so beobachtet man im Verlauf des Experiments eine scheinbare Verlangsamung der Tracer-Inkorporation (es fehlt ja ab einem bestimmten Zeitpunkt der Anreicherungs-Anstieg in den Pools mit vergleichsweise schnellem Eiweiß-Umsatz). Diese „Verlangsamung“ führt dann rechnerisch (die Differenz der summarischen Protein-Anreicherungen zwischen zwei verschiedenen Messzeitpunkten steht ja im Zähler, Abbildung 5!) zu einer scheinbaren Verringerung der summarischen Proteinsyntheserate in einem Gewebe. Tatsächlich bleiben jedoch die „wahren“ Syntheseraten in den einzelnen Pools unverändert; es fehlt jedoch die Information aus dem Pool mit schnellem Eiweiß-Umsatz (hier wurde vor der „Verlangsamung“ das Plateau schon erreicht) und der Pool mit langsamerem Umsatz dominiert jetzt die summarische Protein-Anreicherung. Aufgrund der zeitlichen

Dynamik der summarischen Protein-Anreicherung wird die Syntheserate in diesem Pool jedoch zu niedrig geschätzt.

Es gibt eine Reihe von Hinweisen dafür, dass diese abstrakten Überlegungen auch konkret für unserer Studie und deren Rahmenbedingungen Gültigkeit besitzen. Zum einen wäre zu fordern, dass im menschlichen Dünndarm ein Protein-Pool mit schnellem Umsatz existiert, in dessen Eiweiß das Anreicherungsplateau bereits vor der 6.Stunde nach Beginn unserer Tracer-Infusion erreicht wird. Eiweiße, die zu diesem „schnellen“ Pool gehören, sollten also eine fraktionelle Proteinsyntheserate vom mindestens $100 \% 6^{-1} h^{-1}$ oder $17 \% h^{-1}$ aufweisen. Bei konstanter Eiweiß-Masse und konstantem Umsatz entspricht diese Syntheserate ungefähr einer Halbwertszeit von drei Stunden. Halbwertszeiten dieser Größenordnung finden sich bei einer Vielzahl von Enzymen oder epithelialen Glykoproteinen wie Laktosaminoglykane oder Proteoglykane (41-44). Auch ein großer Teil der zellulären Proteine besitzt Halbwertszeiten um die 3,5 Stunden (45). Dabei können bestimmte Glykoproteine wie Sukrase, Laktase oder Disaccharidase in vitro etwas längere Halbwertszeiten (um die 12 Stunden) aufweisen; es ist jedoch zu berücksichtigen, dass die Umsatzraten dieser Proteine durch zahlreiche physiologische und pathophysiologische Stimuli beschleunigt werden können, woraus sich in vivo eine signifikant kürzere Halbwertszeit ergibt (41, 45-50).

Zum zweiten wäre zu fordern, dass der Anteil dieses Pools mit schnellem Umsatz am „gemischten“ Gesamtpool relevant, d.h. mindestens im Prozentbereich liegen muss (12). Leider liegen dazu keine menschlichen Daten vor. Bei Ratten wurde gefunden, dass Sukrase-Isomaltase und Maltase ungefähr 1 % der Mukosa-Proteine darstellen (51). Dabei entfiel etwa 6 bis 10 % der gesamten Mukosa-Tracerinkorporation auf die Synthese aller Glykoproteine (52). In der Rattenleber weisen etwa 10 % aller Proteine Syntheseraten von $20 \% h^{-1}$ oder mehr auf (36, 40).

Somit kann insgesamt festgestellt werden, dass für die Kontrollgruppe unserer Studie die Wahrscheinlichkeit hoch ist, dass Pool-Phänomene für die nicht-lineare Tracer-Inkorporation in das (gemischte) Mukosa-Protein, und damit für den (allerdings nur scheinbaren) Abfall der Mukosa-Proteinsyntheserate während der Tracerinfusion verantwortlich waren. Wichtig ist nun, dass derartige Pool-Phänomene auch bei der Interpretation von Ergebnissen berücksichtigt werden müssen, die nach einer metabolischen Manipulation der Ileum-Proteinsyntheserate gewonnen wurden.

In unseren Untersuchungen wurde die Aminosäure-Infusion nach der zweiten Gewebsbiopsie (nach 6-stündiger Isotopeninfusion, bzw. nach der Basalperiode) begonnen. Nach den obigen Überlegungen ist klar, dass eine Auswirkung der Aminosäure-Infusion auf die Synthese von Proteinen mit einer sehr schnellen Syntheserate ($> 17 \% h^{-1}$) nicht messbar gewesen wäre. Bei diesen Proteinen hat sich bereits vor Beginn der Aminosäure-Infusion die Plateau-Anreicherung eingestellt, und letztere kann - bei konstanter Anreicherung im Präkursorpool - nicht weiter zunehmen, auch wenn die Synthese dieser Proteine gesteigert werden sollte. Andererseits lässt es unsere Versuchsaufbau eindeutig zu, Veränderungen der Syntheserate bei den Proteinen festzustellen, bei denen die Plateau-Anreicherung nicht vor der 10. Stunde der Tracerinfusion erreicht wird (Ausgangssyntheseraten $< 10 \% h^{-1}$). Die Anreicherungen dieser „langsameren“ Proteine können in der Experimentalperiode (in Abhängigkeit von der Wirkung der metabolischen Manipulation) noch weiter über den linearen Verlauf hinaus ansteigen.

5.2. Hyperaminoazidämie und Ileum-Proteinsyntheserate

Zentrales Ergebnis unserer Studie war es, dass ein akuter Anstieg der Plasma-Aminosäurenkonzentration nach abdominalchirurgischen Eingriffen mit einer Stimulation der intestinalen Proteinsynthese verbunden war. Nach einer 4-stündigen Aminosäure-Infusion in einer Dosierung von $0,067 \text{ g kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ($1,6 \text{ g kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$) war die fraktionelle Proteinsyntheserate am Ileum fast 100 % höher als in der Kontrollgruppe (Abbildung 12). Nach den Ausführungen unter 5.1 können wir uns auch ziemlich sicher sein, dass der akute Anstieg der Aminosäure-Konzentration zu einer Steigerung der Proteinsyntheserate im Pool der Proteine mit vergleichsweise langsamem Umsatz geführt haben muss. Die Frage, ob auch Proteine mit schnellerem Umsatz (Syntheseraten $> 10 \% \text{ h}^{-1}$), dabei ihre Syntheserate gesteigert haben, kann jedoch mit dem von uns gewählten Versuchsaufbau nicht beantwortet werden. Eine Synthesesteigerung in diesem Pool mit schnellem Eiweiß-Umsatz kann aber auch nicht ausgeschlossen werden.

Wir können somit zum ersten Mal am Menschen zeigen, dass die parenterale Zufuhr von Aminosäuren in der empfohlenen Maximaldosierung postoperativ in der Lage ist, die intestinale Proteinsynthese zu steigern. Dass ein vermehrtes Angebot von Aminosäuren für den menschlichen Intestinaltrakt wichtig sein könnte, wurde bereits in der Vergangenheit durch eine Reihe von Untersuchungen am Splanchnikusgebiet des Menschen nahegelegt. Die Hyperaminoazidämie war unter verschiedensten klinischen Bedingungen in der Lage, den Eiweiß-Stoffwechsel des Splanchnikusgebiets zu stimulieren, und auch speziell bei parenteraler Aminosäurezufuhr konnte dadurch die Gewebsintegrität aufrecht erhalten werden. Unter Zufuhr von 0.08 bis $0.2 \text{ g Aminosäuren kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ wurden am menschlichen Splanchnikusgebiet eindeutig positive Aminosäure-Bilanzen registriert als Hinweis auf eine 50 bis 70 %ige sog. First Pass Retention (53). Gleichzeitig waren im Splanchnikusgebiet von

gesunden Probanden, aber auch von mangelernährten Patienten ein Anstieg der Aminosäureaufnahme und ein Abfall der Aminosäureabgabe festzustellen (14-16). War die Hyperaminoazidämie mit einer gleichzeitigen euglykämischen Hyperinsulinämie kombiniert, so konnte auch eine deutliche Steigerung der summarischen Proteinsyntheserate des Splanchnikusgebiets nachgewiesen werden (17). Leider erlauben diese Studien es jedoch nicht, zwischen hepatischen, gastral, splenischen, pankreatischen und intestinalen Veränderungen zu differenzieren. Außerdem ist die Übertragbarkeit auf die postoperative Situation nicht gesichert.

Selektive anabole Wirkungen einer Hyperaminoazidämie am Intestinaltrakt konnten bisher nur im Tierexperiment untersucht werden. Dabei sind aber ausgeprägte Speziesunterschiede zu berücksichtigen. Am Hund konnte gezeigt werden, dass unter Aminosäure-Infusion die Leuzin-Bilanz im Pfortader-Stromgebiet positiver wurde, wobei die Leuzinaufnahme in diesen Geweben fast 30 % der Leuzinaufnahme des gesamten Organismus darstellte. Somit scheint der Darm einen bedeutenden Beitrag zur gesamten Aminosäure-Verwertung zu leisten (54, 55). Gleichzeitig wurde unter intravenöser Aminosäurezufuhr eine Steigerung der intestinalen Proteinsynthese beobachtet (56, 57). Möglicherweise sind diese Beobachtungen jedoch für Hunde spezifisch, da sich bei Schweinen ein ähnlicher stimulierender Effekt der Hyperaminoazidämie auf die jejunale Proteinsynthese nicht beobachten ließ (58, 59). Bei gesunden Menschen war eine Aminosäureinfusion mit einer Rate von $0.07-0.08 \text{ g kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ über vier Stunden ebenfalls nicht in der Lage, die Proteinsynthese des Duodenums signifikant zu steigern (18). Diese negativen Resultate am menschlichen Duodenum sind jedoch in ihrer Relevanz fragwürdig, und zwar aus zwei methodischen Gründen. Zum einen verwendeten die Autoren ein fehlerhaftes Äquivalent für die intestinale Präkursorpool-Anreicherung (die Leuzin-Anreicherung im Plasma) (30), und zum anderen wurden die Ergebnisse nur mittels einer Biopsie pro Proband, und nicht, wie bei unserem Studienaufbau, mittels dreier konsekutiver Biopsien gewonnen.

Die Verwendung von nur einer Biopsie nach 4-stündiger gleichzeitiger Tracer- und Aminosäure-Infusion ist jedoch anfällig für Interferenzen durch die oben geschilderten Pool-Phänomene.

In einer früheren, ebenfalls postoperativen Untersuchung unserer Arbeitsgruppe am menschlichen Kolon wurde gefunden, dass eine 4-stündige Aminosäure-Infusion in einer Dosierung von $0,067 \text{ g kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ die Proteinsynthese des Kolons im Vergleich zu fastenden Kontrollpatienten reduzierte. Zusätzlich konnte in der Kontrollgruppe während des gesamten Untersuchungszeitraums kein „scheinbarer“ Abfall der Kolon-Proteinsynthese beobachtet werden. Der paradoxe Effekt der Hyperaminoazidämie wurde dabei durch eine mutmaßliche antiinflammatorische Wirkung von Glutamin, welches in der Aminosäure-Infusionslösung enthalten war, erklärt (13). Grundsätzlich scheint es so zu sein, dass zwischen Kolon und Ileum deutliche qualitative Unterschiede hinsichtlich des Eiweiß-Stoffwechsels und der einzelnen Protein-Pools bestehen. So ist bekannt, dass der Prozentsatz an proliferierenden Zellen und entsprechende Stoffwechselraten am Kolon deutlich niedriger sind als am Ileum, wodurch das Kolon gegenüber metabolischen Effektoren und Pool-Phänomenen deutlich unempfindlicher werden könnte (60). Diese Besonderheiten erklären sehr wahrscheinlich die unterschiedlichen Reaktionen des Kolons bzw. Ileums auf einen akuten Fastenzustand bzw. auf die Zufuhr von Glutamin-haltigen Aminosäurelösungen. Aufgrund der Beobachtungen am menschlichen Kolon können wir jedoch nicht ausschließen, dass in der gegenwärtigen Studie am menschlichen Ileum, die ebenfalls unter Verwendung Glutamin-haltiger Aminosäure-Infusionslösungen durchgeführt wurde, die Proteinsyntheserate unter Aminosäure-Infusion sogar noch höher ausgefallen wäre, wenn wir gleichzeitig Glutamin-freie Infusionslösungen verwendet hätten.

Die Bedeutung von Glutamin für den intestinalen Eiweiß-Stoffwechsel verdient dabei eine besondere Betrachtung. Vorauszuschicken ist, dass bis auf die Untersuchungen unserer eigenen Institution diesbezüglich bisher nur Daten zu gesunden Organismen vorliegen, und

somit anti-inflammatorische Wirkungen des Glutamins für die Interpretation der Ergebnisse keine Rolle spielen.

Schon seit langem ist bekannt, dass Glutamin für den Dünndarm ein wichtiger Energie-Lieferant ist. Aus diesem Grund wurden die Auswirkungen einer parenteralen Glutamin-Zufuhr in der Vergangenheit intensiv beforscht. Diese Entwicklung wurde durch die kommerzielle Verfügbarkeit von in Lösung stabilen, Glutamin-haltigen Dipetiden zusätzlich stimuliert. Trotzdem besteht weiterhin eine ausgeprägte Unsicherheit bezüglich der tatsächlichen Verwertung von Glutamin, und der speziellen Effekte einer parenteralen Zufuhr. Diese Unsicherheit betrifft insbesondere den menschlichen Intestinaltrakt (61). Ohne Zweifel ist es so, dass intravenöses Glutamin oder intravenöse Glutamin-haltige Dipetide effizient im menschlichen Splanchnikus-Gebiet verwertet werden (bei Glutamin-Dosierungen zwischen 15 bis 23 mg kg⁻¹ h⁻¹). Etwa 18 % der Glutamin-Aufnahme des gesamten Körpers findet im Splanchnikus-Gebiet statt (62, 63). Erneut erlauben letztere Untersuchungen jedoch nicht, zwischen einer Verwertung im Darm und im restlichen Splanchnikus-Gebiet zu unterscheiden. Selektive Studien am Intestinaltrakt wurden in der Vergangenheit nur am Hund durchgeführt. Dabei zeigte sich, dass – im Vergleich zu anderen Organen – die Dipetid-Aufnahme im portal-venösen Stromgebiet bei entsprechender Dipetid-Infusion relativ niedrig war (8 bis 10 % der gesamten Utilisation). Interessanterweise blieb dabei die Aufnahme von freiem Glutamin unverändert (64, 65).

Einflüsse von parenteralem Glutamin auf die intestinale Proteinsynthese wurden in der Vergangenheit am Hund untersucht. Trotz Zufuhr sehr hoher Dosen (140 mg kg⁻¹ h⁻¹) konnten dabei keine Veränderungen beobachtet werden (66). Diese negativen Befunde bei parenteraler Applikation stehen dabei im Gegensatz zu den eindeutig stimulierenden Wirkungen, die für eine enterale Glutamin-Zufuhr beschrieben wurden (67, 68, 69). Allerdings ist zu berücksichtigen, dass die bei diesen Studien angewandte Tracer-Technik, wie oben bereits ausgeführt, nicht ohne Probleme war (nur eine Mukosabiopsie, lumenale Substrat-

Zufuhr bei intravenöser Tracer-Infusion). Somit können Interferenzen durch Pool-Effekte nicht ausgeschlossen werden, und primär anabole Wirkungen von intravenösem Glutamin am Intestinaltrakt bleiben weiter unsicher.

Nur drei Studien untersuchten bisher selektive Wirkungen von parenteralem Glutamin (Dipeptide) am menschlichen Intestinaltrakt (Duodenum). Diese Studien wurden dabei an mangelernährten Individuen oder an Patienten mit verschiedenen internistischen Funktionsstörungen des Intestinaltraktes durchgeführt. Glutamin wurde dabei als Zusatz zu einer konventionellen kompletten parenteralen Ernährung über einen Zeitraum von 8 bis 14 Tagen verabreicht. Darunter konnte ein deutlicher Anstieg der Glutamin-Konzentration im Plasma beobachtet werden. Die Dünndarm-Morphologie (Zottenhöhe, Enterozyten-Proliferation) veränderte sich dabei jedoch nicht, allerdings kam es unter Glutamin-supplementierter kompletter parenteraler Ernährung auch zu keiner Verschlechterung der Mukosa-Funktion (70, 71, 72, 73). Somit bleibt unklar, welche Bedeutung die parenterale Glutamin-Substitution tatsächlich für die Funktion des Intestinaltraktes hat. Hinsichtlich der Interpretation unserer Ergebnisse ist es jedoch – unter Berücksichtigung aller verfügbaren Daten – nicht sehr wahrscheinlich, dass Glutamin bei der Stimulation der Ileum-Proteinsynthese eine zentrale Rolle spielte.

5.3. Die Bedeutung des anabolen intestinalen Aminosäure- Effektes für die parenterale Ernährung

Die parenterale Ernährung ist heute bei einer Vielzahl von Erkrankungen etablierter Bestandteil der adjuvanten Therapie. Trotzdem ist bis heute unklar, ob diese Form der Ernährungstherapie die gleiche globale wie auch regionale Effizienz besitzt, wie die orale/enterale Nahrungszufuhr. Dies betrifft ganz besonders die Funktion des Intestinaltraktes. Es ist bemerkenswert, dass bis heute nur zwei Studien den Einfluss einer enteralen bzw. parenteralen Ernährung auf den Mukosastoffwechsel unter standardisierten Versuchsbedingungen miteinander verglichen haben. Es handelt sich dabei um eine Langzeituntersuchung an neugeborenen Schweinen über 7 Tage (74) bzw. einen Akutversuch über 6 Stunden am Hund (57). In beiden Studien konnte klar gezeigt werden, dass sowohl das Jejunum des neugeborenen Schweines wie auch der Dünndarm des Hundes unter enteraler Substratzufuhr eine deutlich höhere Proteinsyntheserate aufweisen. Die Auswirkungen auf die Proteinabbaurate waren jedoch bei den beiden Spezies nicht miteinander vergleichbar. So fand sich unter enteraler Ernährung am neugeborenen Schwein im Vergleich zur ausschließlich kompletten parenteralen Ernährung eine signifikante Steigerung auch der Proteinabbaurate. Dabei bestand insgesamt jedoch ein positiver anaboler Effekt, wenn man die Differenz zwischen Synthese- und Abbau-Rate berücksichtigte. Am Hund reagierte die Proteinabbaurate genau gegensätzlich. Unter enteraler Ernährung sank die intestinale Eiweiß-Abbaurate auf fast ein Drittel der Werte wie sie unter kompletter parenteraler Ernährung gemessen wurden.

Somit scheinen im Hinblick auf verschiedene Ernährungsmodalitäten Speziesunterschiede zu bestehen. Rein grundsätzlich ist festzustellen, dass sowohl

neugeborene Schweine wie auch erwachsene Hunde intestinale Eiweißumsatzraten aufweisen, die um den Faktor 5 bis 7 über den Umsatzzahlen erwachsener Menschen liegen (75). Somit ist allein aufgrund dieser Unterschiede davon auszugehen, dass zumindest der gesunde menschliche Intestinaltrakt nicht so empfindlich auf eine ausschließlich parenterale Substratzufuhr reagieren würde, wie es für kleinere Säugetiere beschrieben wurde. Allerdings ist bis heute nicht in sorgfältigen Studien geklärt, ob parenterale bzw. enterale Ernährung am Intestinaltrakt des Menschen vergleichbare Wirkungen besitzen,

Die wenigen Studien, die zu diesem Thema beim Menschen vorliegen, beschäftigen sich praktisch ausschließlich mit einem Vorher/Nachher Vergleich, d.h. zuvor oral/enteral ernährte Individuen wurden in der Folge über unterschiedliche Zeiträume parenteral ernährt und gleichzeitig wurden entsprechende Stoffwechselveränderungen an der Mukosa (in der Regel Duodenum) untersucht. Eine Gesamtbetrachtung aller zu diesem Thema vorliegenden Studien scheint die zuvor gemachten Überlegungen hinsichtlich der Reagibilität des menschlichen Intestinaltraktes auf unterschiedlich Modalitäten der Nahrungszufuhr zu bestätigen. Allerdings ist festzustellen, dass die vorliegenden Studien praktisch ausschließlich an Individuen mit internistischer Grunderkrankung (Colitis-Patienten, Tumor- oder Kurzdarmpatienten) durchgeführt wurden. Es zeigte sich, dass bei einer ausschließlich parenteralen Ernährung über einen Zeitraum von bis zu 2 Wochen keine wesentlichen Veränderungen des Proteingehalts, der Enterozytenproliferation oder der Mikrovillushöhe auftraten. Nur die Villushöhe selbst scheint um 10 bis 20 % abzunehmen [76, 77, 70, 71]. Auch nach einem Monat ausschließlich parenteraler Ernährung sind noch keine dramatischen Veränderungen zu beobachten, beschrieben wurde eine verringerte Enzymsekretion sowie eine Abnahme der Mikrovillushöhe [78, 79]. Erst nach mehr als 9-monatiger ausschließlich parenteraler Nahrungszufuhr finden sich eindeutige Atrophiezeichen sowie ein signifikanter Rückgang der Enterozytenproliferation [79]. Aber auch hier muss einschränkend festgestellt werden, dass es sich dabei nur um Befunde bei Kindern handelt.

Wie sich die Mukosa Erwachsener unter vergleichbaren Umständen verhalten würden, ist bisher nicht bekannt.

Bemerkenswert ist, dass diese relativ langsame zeitliche Dynamik relevanter morphologischer/metabolischer Veränderungen am menschlichen Intestinaltrakt trotz der Abwesenheit von Glutamin im parenteral applizierten Aminosäuregemisch zu beobachten war. Somit scheint die nicht-supplementierte parenterale Zufuhr von Aminosäuren in gängiger Dosierung auszureichen, um die Mukosa-Integrität des Menschen auch über lange Zeiträume weitgehend aufrecht zu erhalten. Die Ergebnisse unserer Studie stützen diese Hypothese und weisen auf die zentrale Rolle der intestinalen Proteinsynthese hin, die auch bei parenteraler Aminosäurezufuhr effizient zu beeinflussen ist.

6. Zusammenfassung

Eine ausreichende Eiweiß-Zufuhr ist Grundvoraussetzung für die Aufrechterhaltung der intestinalen Funktion. Nach abdominalchirurgischen Eingriffen kommt es im Gastrointestinaltrakt jedoch häufig zu Motilitätsstörungen oder anatomischen Veränderungen, die eine ausreichende orale/enterale Ernährung des Patienten verhindern und bei denen dann die Indikation zur parenteralen Ernährung besteht. Allerdings ist bis heute nicht bekannt, in wie weit eine parenterale Aminosäuren-Zufuhr postoperativ den Eiweiß-Stoffwechsel der menschlichen Mukosa beeinflussen kann.

In der vorliegenden Arbeit wollten wir untersuchen, welchen selektiven Einfluss eine Standard – Aminosäureinfusion in üblicher Dosierung auf die postoperative Proteinsynthese des Ileums hat. Die an der Studie teilnehmenden Patienten (zwei Gruppen) mussten sich alle einem vergleichbaren, großen kolorektalen Eingriff unterziehen, der auch die Anlage eines Ileostomas beinhaltet. Acht Patienten bildeten die Kontrollgruppe und weitere acht Patienten die Gruppe der Patienten, die parenteral Aminosäuren zugeführt bekamen. Alle Patienten wurden am 8. – 10. postoperativen Tag im nüchternen Zustand untersucht.

Die fraktionelle Proteinsyntheserate des Ileums wurde mittels der Stablen-Isotopen-Technik bestimmt. Dazu erhielten alle Patienten eine Bolusinjektion von $9,6 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$ und anschließend eine 10-stündige Infusion von $0,16 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ der Traceraminosäure 1- ^{13}C]-Leuzin. Die Kontrollgruppe erhielt nach einer Basalperiode (Phase I, Nüchternzustand) in der Phase II der Studie (sechs bis zehn Stunden nach Infusionsbeginn) eine Infusion mit 0.9. % NaCl – Lösung. In der Testgruppe wurde in der Phase II eine Standard – Aminosäurelösung parenteral in einer Dosis von $0,067 \text{ g kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ zugeführt. Diese Dosis entsprach den aktuellen Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Ernährungsmedizin.

Drei, sechs und zehn Stunden nach dem Start der Isotopenzufuhr wurden Mukosa-Biopsien für die massenspektrometrische Analyse durchgeführt und Blutproben für die

Messung der Aminosäure-Konzentration entnommen. Die Protein-gebundene Tracer-Anreicherung wurde mit Hilfe der Gaschromatographie-Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie (GC-IRMS), die Tracer-Anreicherung im Präkursorpool für die Proteinsynthese des Ileums (freie intrazelluläre Leuzin-Anreicherung) mit Hilfe des Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GCMS) bestimmt. Unter Verwendung dieser beiden Anreicherungen konnten die fraktionelle Proteinsyntheserate des Ileums berechnet werden.

Im Kontrollkollektiv fanden wir während der Nüchternphase einen signifikanten Abfall der fraktionellen Proteinsyntheserate zwischen Phase I (Zeitraum zwischen erster und zweiter Biopsie) und Phase II (Zeitraum zwischen zweiter und dritter Biopsie). Sie betrug am Ende der Phase I $1,14 \pm 0,13 \text{ \% h}^{-1}$ und am Ende der Phase II $0,47 \pm 0,4 \text{ \% h}^{-1}$ ($p < 0,001$). Dabei blieb jedoch die Plasmaamino­säurenkonzentration konstant. Unter Aminosäurezufuhr beobachteten wir einen signifikanten Anstieg in der Aminosäurenkonzentration am Ende von Phase II. Gleichzeitig blieb die fraktionellen Proteinsyntheserate stabil (Phase II: $0,89 \pm 0,10 \text{ \% h}^{-1}$, n.s. vs. $1,14 \pm 0,17 \text{ \% h}^{-1}$ in Phase I) und war in Phase II auch signifikant größer als die entsprechenden Syntheseraten in der Kontrollgruppe ($p < 0,05$).

Somit war eine Standard – Aminosäureinfusion unter der empfohlenen maximalen Zufuhr­rate in der Lage, die postoperative Ileum-Proteinsynthese signifikant zu stimulieren. Der Abfall der Proteinsyntheserate im Kontrollkollektiv wurde nach Befunden in der Literatur nicht durch den akuten Fastenzustand verursacht. Verantwortlich für diesen technisch bedingten Abfall waren vielmehr Pool-Phänomene, die bei kontinuierlicher Tracer-Applikation auftreten können, wenn in den entnommenen Gewebeproben der Anteil an Proteinen mit sehr schnellem Umsatz (fraktionelle Syntheserate > 15 bis 20 \% h^{-1}) vergleichsweise hoch ist. Der (relative) Aminosäure-Effekt in Phase II wird jedoch durch diese Pool-Phänomene nicht verfälscht.

Die Ergebnisse unserer Studie zeigen zum ersten Mal die Wichtigkeit der parenteralen Aminosäure-Zufuhr für den Eiweiß-Stoffwechsel der Mukosa nach abdominalchirurgischen Eingriffen. Unsere Befunde können auch erklären, warum eine komplette parenterale Ernährung in gängiger Dosierung ausreicht, um – im Gegensatz zu kleinen Säugetieren oder Nagern – die Mukosa-Integrität des Menschen auch über lange Zeiträume weitgehend aufrecht zu erhalten.

7. Anhang

7.1 Tabellen

Tabelle 1:

Körpergröße, Körpergewicht, Bodymass-Index (BMI), Alter und Geschlecht der Patienten in den Patientengruppen (AS, Aminosäuren).

Gruppe	Patient	Körper- größe (cm)	Körpergewicht (kg)	BMI	Alter (Jahre)	Geschlecht
Kontrolle	#1	171	75,0	25,6	74	männlich
	#2	179	68,0	21,2	54	männlich
	#3	162	75,0	28,0	65	weiblich
	#4	162	57,5	21,9	72	weiblich
	#5	152	55,0	23,8	59	weiblich
	#6	158	62,0	24,8	53	weiblich
	#7	181	83,0	25,3	55	männlich
	#8	180	84,3	26,0	79	männlich

Gruppe	Patient	Körper- größe (cm)	Körpergewicht (kg)	BMI	Alter (Jahre)	Geschlecht
AS-Infusion	#1	180	80,2	24,8	53	männlich
	#2	188	86,4	24,4	63	männlich
	#3	178	88,5	27,9	66	männlich
	#4	167	70,0	25,1	63	männlich
	#5	182	82,7	25,0	64	männlich
	#6	174	78,1	25,8	64	weiblich
	#7	168	70,0	24,8	58	männlich
	#8	175	68,7	22,4	71	weiblich

Tabelle 2:

Isotopomer – Verhältnis (M+1/M) für das freie, intrazelluläre Leuzin in den Patientengruppen. Die Hintergrundanreicherung wurde im Pool der freien Aminosäuren im Plasma bestimmt. Biopsie 1 wurde nach 180 min., Biopsie 2 nach 360 min. und Biopsie 3 nach 600 min. nach Start der Infusion des Tracers 1- ^{13}C]-Leuzin entnommen. Zwischen min 360 und min 600 der Studie erhielten die Patienten der Aminosäure (AS) - Gruppe 67 mg Aminosäuren $\text{kg}^{-1} \text{h}^{-1}$. In der Kontrollgruppe wurde physiologische Kochsalzlösung (NaCl) infundiert.

Gruppe	Patient	M+1/M Hintergrund	M+1/M Biopsie 1	M+1/M Biopsie 2	M+1/M Biopsie 3
Kontrolle	#1	0,269	0,3095	0,3125	0,3047
	#2	0,247	0,2893	0,2986	0,3028
	#3	0,271	0,3246	0,3148	0,3229
	#4	0,269	0,342	0,3399	0,323
	#5	0,274	0,3414	0,3482	0,3378
	#6	0,275	0,3224	0,3249	0,3414
	#7	0,279	0,321	0,3261	0,3335
	#8	0,2674	0,3165	0,3209	0,3219
AS-Infusion	#1	0,267	0,324	0,320	0,321
	#2	0,260	0,298	0,300	0,298
	#3	0,256	0,306	0,304	0,302
	#4	0,243	0,306	0,314	0,306
	#5	0,254	0,322	0,316	0,313
	#6	0,259	0,326	0,334	0,316
	#7	0,243	0,284	0,301	0,296
	#8	0,268	0,312	0,318	0,312

Tabelle 3:

Präkursorpoolanreicherung: 1- ^{13}C]-Leuzin Tracer / Tracee – Verhältnis für das freie, intrazelluläre Leuzin (z_{AA}) in den Patientengruppen. Biopsie 1 wurde nach 180 min., Biopsie 2 nach 360 min. und Biopsie 3 nach 600 min. nach Start der Infusion des Tracers 1- ^{13}C]-Leuzin entnommen. Zwischen min 360 und min 600 der Studie erhielten die Patienten der Aminosäure (AS) - Gruppe 67 mg Aminosäuren $\text{kg}^{-1} \text{h}^{-1}$. In der Kontrollgruppe wurde physiologische Kochsalzlösung (NaCl) infundiert.

Gruppe	Patient	z_{AA} Biopsie 1	z_{AA} Biopsie 2	z_{AA} Biopsie 3
Kontrolle	#1	0,0406	0,0436	0,0358
	#2	0,0426	0,0519	0,0561
	#3	0,0530	0,0432	0,0513
	#4	0,0731	0,0710	0,0541
	#5	0,0676	0,0744	0,0640
	#6	0,0474	0,0499	0,0664
	#7	0,0422	0,0473	0,0547
	#8	0,0491	0,0535	0,0545
AS-Infusion	#1	0,0568	0,0532	0,05409
	#2	0,03702	0,03936	0,03702
	#3	0,05022	0,04849	0,04658
	#4	0,06282	0,07035	0,06204
	#5	0,06791	0,06131	0,05834
	#6	0,0666	0,07435	0,05653
	#7	0,04072	0,05733	0,05238
	#8	0,04405	0,04971	0,04371

Tabelle 4:

$\Delta^{13}\text{C}$ -Werte für das Protein der Ileum-Mukosa in den Patientengruppen. Die Hintergrundanreicherung wurde im Pool der freien Aminosäuren im Plasma bestimmt. Biopsie 1 wurde nach 180 min., Biopsie 2 nach 360 min. und Biopsie 3 nach 600 min. nach Start der Infusion des Tracers 1- ^{13}C -Leuzin entnommen. Zwischen min 360 und min 600 der Studie erhielten die Patienten der Aminosäure (AS) - Gruppe 67 mg Aminosäuren $\text{kg}^{-1} \text{h}^{-1}$. In der Kontrollgruppe wurde physiologische Kochsalzlösung (NaCl) infundiert.

Gruppe	Patient	$\Delta^{13}\text{C}$ Hintergrund	$\Delta^{13}\text{C}$ Biopsie 1	$\Delta^{13}\text{C}$ Biopsie 2	$\Delta^{13}\text{C}$ Biopsie 3
Kontrolle	#1	-25,3	-11,3	7	23,7
	#2	-26,4	-22,6	-7	-2,4
	#3	-25,2	-10,4	5	7,6
	#4	-26,7	-13,4	3,8	11
	#5	-24,3	-19,1	-2	0,9
	#6	-27,7	-12,2	2,8	12,1
	#7	-25,9	-5,2	1,6	5,9
	#8	-26,0	-13,8	1,9	9,3
AS-Infusion	#1	-25,7	-2,9	7,8	24,1
	#2	-24,9	-3	18,3	31,5
	#3	-27	0,7	9,8	22,8
	#4	-26,1	-1,2	8,1	36,3
	#5	-27,2	-6,8	19,1	26,8
	#6	-26,3	2,6	22,8	40
	#7	-26,9	-8	4,7	18,9
	#8	-27	15,4	36,9	59,2

Tabelle 5:

Isotopenverhältnis $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ (%) für NAP-1- ^{13}C -Leuzin für das Protein der Ileum-Mukosa in den Patientengruppen. Das Hintergrundverhältnis wurde im Pool der freien Aminosäuren im Plasma bestimmt. Biopsie 1 wurde nach 180 min., Biopsie 2 nach 360 min. und Biopsie 3 nach 600 min. nach Start der Infusion des Tracers 1- ^{13}C -Leuzin entnommen. Zwischen min. 360 und min. 600 der Studie erhielten die Patienten der Aminosäure (AS) - Gruppe 67 mg Aminosäuren $\text{kg}^{-1} \text{h}^{-1}$. In der Kontrollgruppe wurde physiologische Kochsalzlösung (NaCl) infundiert.

Gruppe	Patient	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ Hintergrund	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ Biopsie 1	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ Biopsie 2	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ Biopsie 3
Kontrolle	#1	0,01072	0,01088	0,01108	0,01126
	#2	0,01071	0,01075	0,01092	0,01097
	#3	0,01072	0,01089	0,01106	0,01108
	#4	0,01071	0,01085	0,01104	0,01112
	#5	0,01073	0,01079	0,01098	0,01101
	#6	0,01070	0,01087	0,01103	0,01113
	#7	0,01072	0,01094	0,01102	0,01106
	#8	0,01071	0,01085	0,01102	0,01110

Gruppe	Patient	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ Hintergrund	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ Biopsie 1	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ Biopsie 2	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ Biopsie 3
AS-Infusion	#1	0,01072	0,01097	0,01109	0,01127
	#2	0,01073	0,01097	0,01120	0,01135
	#3	0,01070	0,01101	0,01111	0,01125
	#4	0,01071	0,01099	0,01109	0,01140
	#5	0,01070	0,01093	0,01121	0,01129
	#6	0,01071	0,01103	0,01125	0,01144
	#7	0,01070	0,01091	0,01105	0,01121
	#8	0,01070	0,01117	0,01141	0,01165

Tabelle 6:

Anreicherung im Protein der Ileum-Mukosa: 1-[¹³C]-Leuzin Tracer / Tracee – Verhältnis für das Protein-gebundene Leuzin (z_{prot}) in den Patientengruppen. Biopsie 1 wurde nach 180 min., Biopsie 2 nach 360 min. und Biopsie 3 nach 600 min. nach Start der Infusion des Tracers 1-[¹³C]-Leuzin entnommen. Zwischen min 360 und min 600 der Studie erhielten die Patienten der Aminosäure (AS) - Gruppe 67 mg Aminosäuren $\text{kg}^{-1} \text{h}^{-1}$. In der Kontrollgruppe wurde physiologische Kochsalzlösung (NaCl) infundiert.

Gruppe	Patient	z_{prot} Biopsie 1	z_{prot} Biopsie 2	z_{prot} Biopsie 3
Kontrolle	#1	0,15	0,36	0,54
	#2	0,04	0,21	0,27
	#3	0,16	0,33	0,36
	#4	0,15	0,34	0,42
	#5	0,06	0,25	0,28
	#6	0,17	0,34	0,44
	#7	0,23	0,30	0,35
	#8	0,13	0,31	0,39
AS-Infusion	#1	0,25	0,37	0,55
	#2	0,24	0,48	0,63
	#3	0,31	0,41	0,55
	#4	0,28	0,38	0,69
	#5	0,23	0,51	0,60
	#6	0,32	0,54	0,73
	#7	0,21	0,35	0,51
	#8	0,47	0,71	0,96

Tabelle 7:

Proteinsynthese der Ileum-Mukosa: Fraktionelle Proteinsyntheseraten (FSR, % h⁻¹) in den Patientengruppen. Phase I umfasste min 180 bis min 360, Phase II min 360 bis min 600 nach Start der Infusion des Tracers 1-[¹³C]-Leuzin. In Phase II der Studie erhielten die Patienten der Aminosäure (AS) - Gruppe 67 mg Aminosäuren kg⁻¹ h⁻¹. In der Kontrollgruppe wurde physiologische Kochsalzlösung (NaCl) infundiert.

Gruppe	Patient	FSR Phase 1	FSR Phase 2
Kontrolle	#1	1,81	1,19
	#2	1,33	0,24
	#3	1,17	0,15
	#4	0,85	0,33
	#5	0,91	0,11
	#6	1,11	0,46
	#7	0,58	0,24
	#8	1,39	1,00
AS-Infusion	#1	0,74	0,85
	#2	2,04	0,99
	#3	0,71	0,76
	#4	0,54	1,19
	#5	1,49	0,37
	#6	1,05	0,78
	#7	0,98	0,75
	#8	1,58	1,41

7.2 Verzeichnis der Abbildungen

Abbildung 1	10
Versuchsablauf	
Abbildung 2	13
Aufarbeitung der Mukosa-Biopsien: Trennung des Mukosa-Eiweiß von den freien intrazellulären Aminosäuren	
Abbildung 3	15
Aufarbeitung der Mukosa-Biopsien: Hydrolyse von Mukosa-Eiweiß, Reinigung und Veresterung der freigesetzten Aminosäuren	
Abbildung 4	16
Aufarbeitung der Mukosa-Biopsien: Reinigung und Derivatisierung der freien intrazellulären Aminosäuren	
Abbildung 5:	17
Prinzip der Berechnung der fraktionellen Proteinsyntheserate	
Abbildung 6:	21
Aminosäure-Konzentration in der Kontrollgruppe und in der Aminosäure-Gruppe	
Abbildung 7:	23
Isotopomer – Verhältnis (M+1/M) im Pool der freien, intrazellulären Aminosäuren der Ileum-Mukosa	
Abbildung 8:	24
Tracer / Tracee – Verhältnis (1-[¹³ C]-Leuzin Anreicherung) im Pool der freien, intrazellulären Aminosäuren der Ileum-Mukosa (Z_{AA})	
Abbildung 9:	26
$\Delta^{13}\text{C}$ -Werte im Protein der Ileum-Mukosa	

Abbildung 10:	27
Isotopenverhältnis $^{13}\text{C} / ^{12}\text{C}$ für NAP-1- ^{13}C -Leuzin im Protein der Ileum-Mukosa	
Abbildung 11:	28
Tracer / Tracee Verhältnis für 1- ^{13}C -Leuzin im Protein der Ileum-Mukosa (z_{prot})	
Abbildung 12:	30
Fraktionelle Proteinsyntheseraten ($\% \text{ h}^{-1}$) der Ileum-Mukosa in den Patientengruppen	

7.3 Verzeichnis der Abkürzungen

BMI	Body-Mass-Index
FSR	Fraktionelle Proteinsyntheserate
GC-IRMS	Gaschromatographie-Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie
GC-MS	Gaschromatographie-Massenspektrometrie
t-BDMS	n-methyl-n-(t-butyldimethyl-silyl)-trifluoro-azetamid
tRNA	Transfer Ribonukleinsäure
Z_{AA}	Tracer / Tracee Verhältnis im Präkursorpool
Z_{Prot}	Tracer / Tracee Verhältnis im Protein

8. Literaturverzeichnis

1. Heyland DK, Dhaliwal R, Drover JW, Gramlich L, Dodek P; Canadian Critical Care.Clinical Practice Guidelines Committee. Canadian clinical practice guidelines for nutrition support in mechanically ventilated, critically ill adult patients. JPEN J Parenter Enteral Nutr. 2003; 27: 355-73.
2. Kreymann KG, Berger MM, Deutz NE, Hiesmayr M, Jolliet P, Kazandjiev G, Nitenberg G, van den Berghe G, Wernerman J; DGEM (German Society for Nutritional Medicine); Ebner C, Hartl W, Heymann C, Spies C; ESPEN (European Society for Parenteral and Enteral Nutrition). ESPEN Guidelines on Enteral Nutrition: Intensive care. Clin Nutr. 2006; 25: 210-23.
3. ASPEN Board of Directors and the Clinical Guidelines Task Force. Guidelines for the use of parenteral and enteral nutrition in adult and pediatric patients. J Parenter Enter Nutr 2002; 26 (Supl.):1SA–138SA
4. Thornton FJ, Barbul A. Healing in the gastrointestinal tract. Surg Clin North Am 1997; 77:549-73.
5. Dardevet D, Moore MC, Remond D, Everett-Grueter CA, Cherrington AD. Regulation of hepatic metabolism by enteral delivery of nutrients. Nutr Res Rev 2006;19: 161-173
6. Tandon BN, Magotra ML, Saraya AK, Ramalingaswami V. Small intestine in protein malnutrition. Am J Clin Nutr. 1968; 21: 813-9.
7. Stanfield JP, Hutt MS, Tunnicliffe R. Intestinal biopsy in kwashiorkor. Lancet. 1965; 2: 519-23.
8. Jackson WD, Grand RJ. The human intestinal response to enteral nutrients: a review. J Am Coll Nutr. 1991; 10: 500-9.
9. Brunser O. Effects of malnutrition on intestinal structure and function in children. Clinics in Gastroenterology 1977; 6: 341-353

10. Jahoor F, Badaloo A, Reid M, Forrester T. Protein metabolism in severe childhood malnutrition. *Ann Trop Paediatr.* 2008; 28: 87-101
11. Chapman MJ, Nguyen NQ, Fraser RJ. Gastrointestinal motility and prokinetics in the critically ill. *Curr Opin Crit Care.* 2007; 13: 187-94.
12. Rittler P, Schiefer B, Demmelmair H, Koletzko B, Vogeser M, Alpers DH, Jauch KW, Hartl WH. The effect of hyperglycemic hyperinsulinemia on small-intestinal mucosal protein synthesis in patients after surgical stress. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2006; 30: 97-107.
13. Rittler P, Schiefer B, Demmelmair H, Koletzko B, Roscher AA, Jacobs R, Krick M, Jauch KW, Hartl WH. Effect of amino acid infusion on human postoperative colon protein synthesis in situ. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2005; 29: 255-61
14. Gelfand RA, Glickman MG, Jacob R, Sherwin RS, DeFronzo RA. Removal of infused amino acids by splanchnic and leg tissues in humans. *Am J Physiol.* 1986; 250: E407-13.
15. Gelfand RA, Glickman MG, Castellino P, Louard RJ, DeFronzo RA. Measurement of L-[1-14C]leucine kinetics in splanchnic and leg tissues in humans. Effect of amino acid infusion. *Diabetes.* 1988; 37: 1365-72.
16. Gil KM, Gump FE, Starker PM, Askanazi J, Elwyn DH, Kinney JM. Splanchnic substrate balance in malnourished patients during parenteral nutrition. *Am J Physiol.* 1985; 248: E409-19.
17. Nygren J, Nair KS. Differential regulation of protein dynamics in splanchnic and skeletal muscle beds by insulin and amino acids in healthy human subjects. *Diabetes.* 2003; 52: 1377-85
18. O'Keefe SJ, Lemmer ER, Ogden JM, Winter T. The influence of intravenous infusions of glucose and amino acids of pancreatic enzyme and mucosal protein synthesis in human subjects. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 1998; 22: 253-8.

19. Lecavalier L, De Feo P, Haymond MW. Isolated hypoisoleucinemia impairs whole body but not hepatic protein synthesis in humans. *Am J Physiol.* 1991; 261: E578-86.
20. Lara TM, Jacobs DO. Effect of critical illness and nutritional support on mucosal mass and function. *Clin Nutr* 1998; 17: 99-105.
21. Klein S, Alpers DH, Grand RJ et al. Advances in nutrition and gastroenterology: summary of the 1997 A.S.P.E.N. Research Workshop. *JPEN* 1988; 22: 3-13.
22. Alpers DH, Stenson WF. Does total parenteral nutrition-induced intestinal mucosal atrophy occur in humans and can it be affected by enteral supplements? *Curr Opin Gastroenterol* 1996; 12: 169-172
23. Hill GL, Douglas RG, Schroeder D. Metabolic basis for the management of patients undergoing major surgery. *World J Surg.* 1993; 17:146-153.
24. Petersson B, Wernerman J, Waller SO, von der Decken A, Vinnars E. Elective abdominal surgery depresses muscle protein synthesis and increases subjective fatigue: effects lasting more than 30 days. *Br J Surg.* 1990; 77: 796-800
25. Hartl WH, Demmelmair H, Jauch KW, Schmidt HL et al. Determination of protein synthesis in human rectal cancer in situ by continuous [1-¹³C] leucine infusion. *Am J Physiol* 1997; 272: E796-E802
26. Weidenhagen R, Wichmann A, Koebe HG et al. Analysis of laser Doppler flux motion in man: comparison of autoregressive modelling and fast Fourier transformation. *Int J Microcirc Clin Exp.* 1996; 16: 64-73
27. Rittler P. Untersuchungen zur Auswirkung abdominalchirurgischer Traumata auf die intestinale Proteinsynthese des Ileums und des Kolons. Dissertation zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin an der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München. München 1999
28. Schiefer B. Einfluss einer glutaminhaltigen Aminosäureninfusion auf die intestinale Proteinsynthese des Kolons nach grossen abdominalchirurgischen Eingriffen.

Dissertation zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin an der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München. München 2005

29. Toffolo G, Foster DM, Cobelli C. Estimation of protein fractional synthetic rate from tracer data. *Am J Physiol* 1993; 264: E128-E135
30. Rittler P, Demmelmair H, Koletzko B et al. Determination of protein synthesis in human ileum in situ by continuous 1-[¹³C]-leucine infusion. *Am J Physiol* 2000; 278: E634-E638
31. Stein TP, Leskiw MJ, Buzby GP, Giandomenico AL, Wallace HW, Mullen JL. Measurement of protein synthesis rates with [¹⁵N]glycine. *Am J Physiol*. 1980; 239: E294-E300.
32. Pomposelli JJ, Palombo JD, Hamawy KJ, Bistrian BR, Blackburn GL, Moldawer LL. Comparison of different techniques for estimating rates of protein synthesis in vivo in healthy and bacteraemic rats. *Biochem J* 1985; 226: 37-42.
33. Koch AL. The evaluation of the rates of biological processes from tracer kinetic data. I. The influence of labile metabolic pools. *J Theoret Biol* 1962; 3: 283-303.
34. Bouteloup-Demange, C, Boirie Y, Déchelotte P, Gachon P, and Beaufrère B. Gut mucosal protein synthesis in fed and fasted humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 1998; 274: E541-E546.
35. Nakshabendi, IM, Obeidat W, Russel RI, Downie S, Smith K, and Rennie MJ. Gut mucosal protein synthesis measured using intravenous and intragastric delivery of stable tracer amino acids. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 1995; 269: E996-E999.
36. Richmond JE, Shoemaker WC, Elwyn DH. Rates of biosynthesis of plasma and liver proteins. *Am J Physiol* 1963; 205: 848-56.
37. Preedy VR, Peters TJ. Protein synthesis of muscle fractions from the small intestine in alcohol fed rats. *Gut* 31: 305-10.

38. Alpers DH. (1972) The relation of size to the relative rates of degradation of intestinal brush border proteins. *J Clin Invest* 1990; 51: 2621-30.
39. Schimke RT, Ganschow R, Doyle D, Arias IM. Regulation of protein turnover in mammalian tissues. *Fed Proc* 1968; 27: 1223-30.
40. Garlick PJ, Waterlow JC, Swick RW. Measurement of protein turnover in rat liver. Analysis of the complex curve for decay of label in a mixture of proteins. *Biochem J* 1976; 156: 657-63.
41. Schimke RT, Doyle D. Control of enzyme levels in animal tissues. *Annu Rev Biochem.* 1970; 39:929-76.
42. Quaroni A, Kirsch K, Weiser MM. Synthesis of membrane glycoproteins in rat small-intestinal villus cells. Effect of colchicine on the redistribution of L-[1,5,6-³H]fucose-labelled membrane glycoproteins among Golgi, lateral basal and microvillus membranes. *Biochem J* 1979; 182: 213-21.
43. MacDermott RP, Donaldson RM Jr, Trier JS. Glycoprotein synthesis and secretion by mucosal biopsies of rabbit colon and human rectum. *J Clin Invest.* 1974; 54: 545-54.
44. Dutt A, Carson DD. Lactosaminoglycan assembly, cell surface expression, and release by mouse uterine epithelial cells. *J Biol Chem* 1990; 265: 430-8
45. Pine MJ. Turnover of intracellular proteins. *Annu Rev Microbiol* 1972; 26: 103-26.
46. Alpers DH, Kinzie JL. Regulation of small intestinal protein metabolism. *Gastroenterology* 1973; 64: 471-96.
47. Cooper JR, Kent PW. The composition and biosynthesis of the glycoproteins and glycolipids of the rabbit small-intestinal brush border. *Biochim Biophys Acta* 1978; 513: 364-81.
48. James WP, Alpers DH, Gerber JE, Isselbacher KJ. The turnover of disaccharidases and brush border proteins in rat intestine. *Biochim Biophys Acta.* 1971; 230: 194-203.

49. Olsen WA, Perchellet E, Malinowski RL. Intestinal mucosa in diabetes: synthesis of total proteins and sucrase-isomaltase. *Am J Physiol.* 1986; 250: G788-93.
50. Hauri HP, Keding M, Haffen K, Grenier JF, Hadorn B. Organ culture of human duodenum and jejunum. *Biol Gastroenterol* 1975; 8: 307-19.
51. Tsuboi KK, Kwong LK, Burrill PH, Sunshine P. Sugar hydrolases and their arrangement on the rat intestinal microvillus membrane. *J Membr Biol* 1979; 50: 101-22.
52. Jentjens T, Strous GJ. Quantitative aspects of mucus glycoprotein biosynthesis in rat gastric mucosa. *Biochem J* 1985; 228: 227-32.
53. Reeds PJ, Burrin DG. The gut and amino acid homeostasis. *Nutrition.* 2000; 16: 666-8.
54. Hamada K, Matsumoto K, Okamura K, Doi T, Minehira K, Shimizu S. Effect of amino acids and glucose on exercise-induced gut and skeletal muscle proteolysis in dogs. *Metabolism.* 1999; 48: 161-6.
55. Ferrannini E, DeFronzo RA, Gusberg R, Tepler J, Jacob R, Aaron M, Smith D, Barrett EJ. Splanchnic amino acid and glucose metabolism during amino acid infusion in dogs. *Diabetes.* 1988; 37: 237-45.
56. Yu YM, Wagner DA, Tredget EE, Walaszewski JA, Burke JF, Young VR. Quantitative role of splanchnic region in leucine metabolism: L-[1-¹³C, ¹⁵N]leucine and substrate balance studies. *Am J Physiol.* 1990; 25: E36-51
57. Yu YM, Burke JF, Vogt JA, Chambers L, Young VR. Splanchnic and whole body L-[1-¹³C, ¹⁵N]leucine kinetics in relation to enteral and parenteral amino acid supply. *Am J Physiol.* 1992; 262: E687-94.
58. Adegoke OA, McBurney MI, Samuels SE, Baracos VE. Modulation of intestinal protein synthesis and protease mRNA by luminal and systemic nutrients. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2003; 284: G1017-26
59. Davis TA, Fiorotto ML, Burrin DG, Reeds PJ, Nguyen HV, Beckett PR, Vann RC, O'Connor PM. Stimulation of protein synthesis by both insulin and amino acids is

- unique to skeletal muscle in neonatal pigs. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2002; 282: E880-90.
60. Potten CS, Kellett M, Rew DA, Roberts SA. Proliferation in human gastrointestinal epithelium using bromodeoxyuridine in vivo: data for different sites, proximity to a tumour, and polyposis coli. *Gut.* 1992; 33: 524-9.
61. Alpers DH. Glutamine: do the data support the cause for glutamine supplementation in humans? *Gastroenterology.* 2006; 130(2 Suppl 1): S106-16.
62. Lochs H, Hubl W, Gasic S, Roth E, Morse EL, Adibi SA. Glycylglutamine: metabolism and effects on organ balances of amino acids in postabsorptive and starved subjects. *Am J Physiol.* 1992; 262: E155-60.
63. Lochs H, Roth E, Gasic S, Hubl W, Morse EL, Adibi SA. Splanchnic, renal, and muscle clearance of alanylglutamine in man and organ fluxes of alanine and glutamine when infused in free and peptide forms. *Metabolism.* 1990; 39: 833-6.
64. Karner J, Roth E. Influence of alanylglutamine infusion on gastrointestinal glutamine and alanine metabolism in anesthetized dogs. *Metabolism.* 1989; 38: 73-7.
65. Abumrad NN, Morse EL, Lochs H, Williams PE, Adibi SA. Possible sources of glutamine for parenteral nutrition: impact on glutamine metabolism. *Am J Physiol.* 1989; 257: E228-34.
66. Marchini JS, Nguyen P, Deschamps JY, Maugere P, Krempf M, Darmaun D. Effect of intravenous glutamine on duodenal mucosa protein synthesis in healthy growing dogs. *Am J Physiol.* 1999; 276: E747-53.
67. Coëffier M, Claeysens S, Hecketsweiler B, Lavoinne A, Ducrotte P, Dechelotte P. Enteral glutamine stimulates protein synthesis and decreases ubiquitin mRNA level in human gut mucosa. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2003; 285: G266-73.

68. Humbert B, Nguyen P, Dumon H, Deschamps JY, Darmaun D. Does enteral glutamine modulate whole-body leucine kinetics in hypercatabolic dogs in a fed state? *Metabolism* 2002; 51: 628-35.
69. Coëffier M, Claeysens S, Lecleire S, Leblond J, Coquard A, Bôle-Feysot C, Lavoigne A, Ducrotté P, Déchelotte P. Combined enteral infusion of glutamine, carbohydrates, and antioxidants modulates gut protein metabolism in humans. *Am J Clin Nutr* 2008; 88: 1284-90.
70. Van der Hulst RR, van Kreel BK, von Meyenfeldt MF, Brummer RJ, Arends JW, Deutz NE, Soeters PB. Glutamine and the preservation of gut integrity. *Lancet*. 1993; 341: 1363-5.
71. Van der Hulst RR, von Meyenfeldt MF, Tiebosch A, Buurman WA, Soeters PB. Glutamine and intestinal immune cells in humans. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 1997; 21: 310-5.
72. Van der Hulst RR, von Meyenfeldt MF, Deutz NE, Stockbrugger RW, Soeters PB. The effect of glutamine administration on intestinal glutamine content. *J Surg Res*. 1996; 61: 30-4.
73. Hulsewe KW, van Acker BA, Hameeteman W, van der Hulst RR, Vainas T, Arends JW, van Kreel BK, von Meyenfeldt MF, Soeters PB. Does glutamine-enriched parenteral nutrition really affect intestinal morphology and gut permeability? *Clin Nutr*. 2004; 23: 1217-25.
74. Stoll B, Chang X, Fan MZ, Reeds PJ, Burrin DG. Enteral nutrient intake level determines intestinal protein synthesis and accretion rates in neonatal pigs. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2000; 279: G288-94.
75. Hartl WH, Rittler P. Pathophysiologie des Eiweißstoffwechsels im menschlichen Intestinaltrakt. *Aktuel Ernaehr Med* 2000; 25: 54-59
76. Buchman AL, Moukarzel AA, Bhuta S, Belle M, Ament ME, Eckhert CD, Hollander D, Gornbein J, Kopple JD, Vijayaraghavan SR. Parenteral nutrition is associated with

- intestinal morphologic and functional changes in humans. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 1995; 19: 453-60.
77. Sedman PC, MacFie J, Palmer MD, Mitchell CJ, Sagar PM. Preoperative total parenteral nutrition is not associated with mucosal atrophy or bacterial translocation in humans. *Br J Surg.* 1995; 82: 1663-7.
78. Guedon C, Schmitz J, Lerebours E, Metayer J, Audran E, Hemet J, Colin R. Decreased brush border hydrolase activities without gross morphologic changes in human intestinal mucosa after prolonged total parenteral nutrition of adults. *Gastroenterology.* 1986; 90: 373-8.
79. Rossi TM, Lee PC, Young C, Tjota A. Small intestinal mucosa changes, including epithelial cell proliferative activity, of children receiving total parenteral nutrition (TPN). *Dig Dis Sci.* 1993; 38: 1608-13.

9. Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. W.H. Hartl, dem Referenten meiner Arbeit, möchte ich größten Dank aussprechen für die Überlassung des Themas, die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes im Forschungslabor der Arbeitsgruppe Stoffwechsel in der chirurgischen Klinik des Klinikums Großhadern, für die zahlreichen Anregungen und kritischen Diskussionen und vor allem für seine sehr engagierte Betreuung.

Besonderer Dank gilt Herrn Dr. P. Rittler und Frau Dr. B.Schiefer, die mich in die Methodik einlernte und mir mit tatkräftiger und produktiver Unterstützung stets zur Seite stand.

Herrn Dr. rer. nat. H. Demmelmaier danke ich ausdrücklich für die große Unterstützung bei der massenspektrometrischen Analytik und Auswertung der Daten. Herrn Prof. Dr. A. Roscher danke ich für die Hilfe bei der Erstellung der Aminosäurenprofile. Herrn Prof. Dr. B. Koletzko, Leiter der Sektion Stoffwechselerkrankungen und Ernährung am Dr. von Haunerschen Kinderspital, Campus Innenstadt, Ludwig-Maximilians-Universität, danke ich für technische Unterstützung.

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. mult. K.-W. Jauch danke ich für die Überlassung des Patientengutes, für die Annahme der Arbeit und auch für wertvolle Anregungen und Vorschläge.

Großen Dank möchte ich auch den Patienten sagen, die sich zur Teilnahme an dieser Studie bereit erklärt haben.

10. Lebenslauf

Name: **David Kuppinger**

Geburtsdatum und -ort: 21.12.1977 in Böblingen

Staatsangehörigkeit: deutsch

Konfession: römisch-katholisch

Familienstand: ledig

1984 - 1988 Grundschule in Böblingen

1988 - 1993 Hauptschule in Böblingen

1993 - 1995 Realschule in Böblingen

1995 - 1998 Gymnasium in Böblingen

1998 - 1999 Zivildienst im Rettungsdienst des
Deutschen Roten Kreuzes
Kreisverband Böblingen

1998 - 2000 Berufsausbildung zum Rettungsassistent
im Rettungsdienst des
Deutschen Roten Kreuzes Kreisverband Böblingen

Seit 2000	Berufstätig als Rettungsassistent im Rettungsdienst des Deutschen Roten Kreuzes Kreisverband Böblingen
2001 - 2007	Medizinstudium an der Ludwig- Maximilians- Universität München
Seit 2007	Assistenzarzt an der Chirurgischen Klinik- und Poliklinik im Klinikum Großhadern, Ludwig-Maximilians-Universität München, unter Herrn Prof. Dr. med. Dr. h.c. K.W. Jauch
Von Juli 2007 bis Sept. 2008	Beurlaubung zur chirurgischen Weiterbildung in der Chirurgischen Abteilung des Kreiskrankenhaus Erding unter Herrn Dr. med. Hermann Bödecker, Abt. für Visceral- und Thoraxchirurgie, und unter Herrn Dr. med. Bernhard Weigel, Abt. für Unfallchirurgie